

BENELUX

PUBLIKATIEBLAD

INHOUD :

Aanbeveling van het Comité van Ministers d.d. 31 december 1968
inzake coördinatie van volks-, woning- en bedrijfstellingen, M (68) 44 1

Aanbevelingen van het Comité van Ministers d.d. 11 december 1968
inzake de toepassing van Benelux-referentiemethoden van onderzoek
(analysemethoden) betreffende :

— honing, M (68) 49	7
— Geëvaporeerde en gecondenseerde melk, M (68) 50	39
— melkpoeder, M (68) 51	57
— zetmeel en puddingpoeder, M (68) 52	71

TABLE DES MATIERES :

Recommandation du Comité de Ministres du 31 décembre 1968
relative à la coordination des recensements de la population, des
logements et des entreprises, M (68) 44 1

Recommandations du Comité de Ministres du 11 décembre 1968
concernant l'application de méthodes d'analyse de référence Benelux
en matière de :

— miel, M (68) 49	7
— lait concentré sucré ou non, M (68) 50	39
— lait en poudre, M (68) 51	57
— féculés et poudres pour pudding, M (68) 52	71

Het Benelux-Publikatieblad wordt uitgegeven door het Secretariaat-Generaal van de BENELUX ECONOMISCHE UNIE, Regentschapsstraat 39, Brussel 1.

Het **Publikatieblad** bevat de tekst van de in Benelux-verband gesloten overeenkomsten tussen de drie Staten, alsmede van door het Comité van Ministers der Unie genomen beschikkingen en aanbevelingen.

Het Publikatieblad kan tevens worden gebruikt als periodieke aanvulling van de « **Benelux-Basisteksten** ».

Deze bevatten de systematisch ingedeelde, volledige verzameling van de officiële teksten der Unie.

Om de Basisteksten bij te werken, dient men de omslag van het Publikatieblad te verwijderen en de losse, geperforeerde blaadjes in de daartoe bestemde banden der Basisteksten in te lassen volgens de bij ieder nummer gevoegde aanwijzingen.

Voor prijs en verkoopadressen van het Publikatieblad en de Basisteksten raadplege men de achterzijde van deze kaft.

Le Bulletin Benelux est édité par le Secrétariat général de l'UNION ECONOMIQUE BENELUX, 39, rue de la Régence, Bruxelles 1.

Dans le **Bulletin Benelux** sont repris les textes des conventions conclues dans le cadre du Benelux entre les trois Etats, ainsi que les textes de décisions et recommandations prises par le Comité de Ministres de l'Union.

Le Bulletin Benelux peut également servir pour compléter régulièrement les « **Textes de base Benelux** ».

Ceux-ci contiennent la collection complète des textes officiels, classés systématiquement.

Pour la mise à jour des Textes de base, il suffit de détacher la couverture du Bulletin et d'insérer les feuillets mobiles perforés dans les reliures des Textes de base, en suivant les instructions accompagnant chaque numéro.

Pour les prix et adresses des Bureaux de vente du Bulletin et des Textes de base, prière de consulter la dernière page de cette couverture.

28° aanvulling

15.4.1969

28° supplément

DEEL ***	TOME ***
<i>Ministeriële Beschikkingen</i>	<i>Décisions ministérielles</i>
Invoegen : blz. 1028-1074	Insérer : p. 1028-1074
Vervangen : Inhoud blz. I t/m III	Remplacer : Table des matières p. I à III

Bewaar telkens de laatste aanvullingsopgave !
U kunt dan steeds nagaan tot en met welke aanvulling Uw boekwerk is bijgewerkt.

Conservez toujours le dernier relevé de suppléments !
Ainsi vous pourrez vérifier à chaque instant jusqu'à quel point votre recueil est à jour.

SECRETARIAAT-GENERAAL BENELUX, REGENTSCHAPSSTRAAT 39, BRUSSEL 1
SECRETARIAT GENERAL BENELUX, 39, RUE DE LA REGENCE, BRUXELLES 1

1028

AANBEVELING
VAN HET COMITE VAN MINISTERS
VAN 31 DECEMBER 1968
INZAKE COORDINATIE VAN VOLKS-, WONING-
EN BEDRIJFSTELLINGEN

M (68) 44

RECOMMANDATION
DU COMITE DE MINISTRES
DU 31 DECEMBRE 1968
RELATIVE A LA COORDINATION
DES RECENSEMENTS DE LA POPULATION,
DES LOGEMENTS ET DES ENTREPRISES

M (68) 44

1029

AANBEVELING
van het Comité van Ministers van de Benelux Economische Unie
inzake coördinatie van volks-, woning- en bedrijfstellingen

M (68) 44

Het Comité van Ministers van de Benelux Economische Unie,
Gelet op de artikelen 8, lid 1 en 90 van het Unieverdrag,

Overwegende dat het voor het voeren van een gecoördineerd
beleid op economisch, financieel en sociaal gebied noodzakelijk
is te beschikken over vergelijkbare gegevens ter beoordeling
van de toestand terzake in de drie landen,

Overwegende dat de gegevens welke bij volks-, woning- en
bedrijfstellingen beschikbaar komen, hiertoe gerekend dienen
te worden,

Overwegende dat tot de eisen voor vergelijkbaarheid van de
uitkomsten van deze algemene tellingen dienen te worden
gerekend :

- a) dat elke te houden telling in de drie landen op dezelfde
datum wordt gehouden ;
- b) volgens gecoördineerde statistische methoden worden uit-
gevoerd,

Beveelt aan :

Artikel 1

De Regeringen der drie Beneluxlanden worden verzocht de
nodige maatregelen te nemen opdat :

- a) elke te houden algemene telling in de drie landen op dezelfde
datum wordt gehouden ;
- b) elke te houden algemene telling volgens zoveel mogelijk
gecoördineerde statistische methoden plaatsvindt.

1029

RECOMMANDATION
du Comité de Ministres de l'Union économique Benelux
relative à la coordination des recensements de la
population, des logements et des entreprises

M (68) 44

Le Comité de Ministres de l'Union économique Benelux,

Vu les articles 8, alinéa 1^{er} et 90 du Traité d'Union,

Considérant que, pour mener une politique coordonnée en matière économique, financière et sociale, il est nécessaire de disposer de données comparables permettant de se faire une idée de la situation en ces matières dans les trois pays,

Considérant que les données obtenues lors des recensements de la population, des logements et des entreprises, entrent en ligne de compte à cet égard,

Considérant que la comparabilité des résultats de ces recensements suppose :

- a) que chaque recensement ait lieu dans les trois pays à une même date ;
- b) que les méthodes statistiques appliquées en la matière soient coordonnées,

Recommande :

Article 1^{er}

Les Gouvernements des trois pays du Benelux sont invités à prendre les mesures nécessaires pour que :

- a) chaque recensement général ait lieu dans les trois pays à une même date ;
- b) chaque recensement général soit effectué en appliquant des méthodes statistiques autant que possible coordonnées.

1030

Artikel 2

De Regeringen der drie Beneluxlanden worden verzocht de eerstkomende volks- en woningtelling in het laatste kwartaal van 1970 en bij voorkeur naar de toestand op 31 oktober 1970 te houden.

Artikel 3

Deze aanbeveling treedt in werking op de dag van haar ondertekening.

Gedaan te Brussel, op 31 december 1968.

De Voorzitter van het Comité van Ministers,

P. GREGOIRE

1030

Article 2

Les Gouvernements des trois pays du Benelux sont invités à tenir le prochain recensement de la population et des logements au cours du dernier trimestre de 1970 et de préférence d'après la situation au 31 octobre 1970.

Article 3

La présente recommandation entre en vigueur le jour de sa signature.

Fait à Bruxelles, le 31 décembre 1968.

Le Président du Comité de Ministres,

P. GREGOIRE

1031

AANBEVELING
VAN HET COMITE VAN MINISTERS
VAN 11 DECEMBER 1968
INZAKE
DE TOEPASSING VAN BENELUX-REFERENTIE-
METHODEN VAN ONDERZOEK, BEHORENDE
BIJ DE AANBEVELING M (63) 21
INZAKE DE HARMONISATIE DER
WETGEVINGEN BETREFFENDE HONING
M (68) 49

RECOMMANDATION
DU COMITE DE MINISTRES
DU 11 DECEMBRE 1968
CONCERNANT L'APPLICATION DE METHODES
D'ANALYSE DE REFERENCE BENELUX
SE RAPPORTANT
A LA RECOMMANDATION M (63) 21, RELATIVE A
L'HARMONISATION DES LEGISLATIONS EN
MATIERE DE MIEL
M (68) 49

1032

AANBEVELING

**van het Comité van Ministers van de Benelux Economische Unie
inzake de toepassing van Benelux-referentiemethoden van
onderzoek, behorende bij de aanbeveling M (63) 21 inzake de
harmonisatie der wetgevingen betreffende honing**

M (68) 49

Het Comité van Ministers van de Benelux Economische Unie,
Gelet op de artikelen 3, 6 en 7 van het Unieverdrag,

Gelet op artikel 9 van de Overgangsovereenkomst,

Gelet op de Aanbeveling van het Comité van Ministers van
23 september 1963 inzake de harmonisatie der wetgevingen
betreffende honing, M (63) 21,

Overwegende, dat geschillen, voortvloeiende uit het toepassen
van verschillende analysemethoden of uit het gebruik van
verschillende normen, dienen te worden vermeden,

Overwegende, dat het in het bijzonder voor de harmonisatie
van het voedingsmiddelentoezicht vereist is, dat gelijke of
gelijkwaardige methoden worden toegepast, dezelfde termen
worden gebezigd en gelijke of gelijkwaardige normen worden
aangelegd,

Beveelt aan :

Enig artikel

De Regeringen der drie Beneluxlanden worden uitgenodigd
bijgaande analysemethoden betreffende honing vóór 1 juli 1969
in hun wetgeving op te nemen als enig geldige referentie-
methoden.

Gedaan te Brussel, op 11 december 1968.

De Voorzitter van het Comité van Ministers,

P. GREGOIRE

1032

RECOMMANDATION

**du Comité de Ministres de l'Union Economique Benelux
concernant l'application de méthodes d'analyse de référence
Benelux se rapportant à la recommandation M (63) 21, relative
à l'harmonisation des législations en matière de miel**

M (68) 49

Le Comité de Ministres de l'Union économique Benelux,

Vu les articles 3, 6 et 7 du Traité d'Union,

Vu l'article 9 de la Convention transitoire,

Vu la Recommandation du Comité de Ministres du 23 septembre 1963, relative à l'harmonisation des législations en matière de miel, M (63) 21,

Considérant qu'il y a lieu d'éviter des contestations nées de l'application de techniques d'analyse différentes ou de l'emploi de normes différentes,

Considérant qu'en particulier l'harmonisation du contrôle des denrées alimentaires exige la mise en œuvre de techniques identiques ou équivalentes et l'emploi de modes d'expression semblables et le recours à des normes identiques ou équivalentes,

Recommande :

Article unique

Les Gouvernements des trois pays du Benelux sont invités à introduire, avant le 1^{er} juillet 1969 dans leurs législations, comme seules méthodes de référence valables, les méthodes d'analyse ci-annexées relatives au miel.

Fait à Bruxelles, le 11 décembre 1968.

Le Président du Comité de Ministres,

P. GREGOIRE

Analysemethode voor honing

M (68) 49, Bijlage

1. Voorbereiding van het monster

1.1. Ter bepaling van het diastasegetal en het hydroxymethylfurfural (H.M.F.) gehalte wordt het monster zonder voorafgaande verhitting, zo goed mogelijk gemengd en de voor deze bepalingen benodigde hoeveelheid afgezonderd.

1.2. Verhit de overblijvende honing op een temperatuur van niet meer dan 50° C. De verhitting geschiedt door de gesloten recipiënt zolang in het waterbad of in een stoof te plaatsen tot een homogeniseerbare massa is ontstaan.

Wanneer de recipiënt waarin de honing zich bevindt niet van glas is, wordt de inhoud overgebracht in een hermetisch sluitende recipiënt van doorzichtig glas.

Meng, na smelten en afkoelen, de honing zorgvuldig, er voor zorgend dat alle condensatieproducten voorkomend op andere delen van de recipiënt opnieuw worden opgenomen.

1.3. Bereid een stam-oplossing door 50 g van de volgens 1.2. voorbereide honing in een maatkolf in gedestilleerd water op te lossen en aan te vullen tot 250 ml.

2. Gehalte aan droge stof

Bepaal, met een pycnometer, de dichtheid bij 20° C van de volgens 1.3. bereide stam-oplossing. Bereken het droge stofgehalte van de honing (E) met behulp van de volgende formule :

$$d \frac{20}{4} = d \frac{20}{20} \times 0,99823$$

$$E = 1302,7 \left(d \frac{20}{4} - 0,99823 \right)$$

3. Gehalte aan in water onoplosbare stof

Weeg, tot op 10 mg nauwkeurig, 20 g van de volgens 1.2. voorbereide honing af. Los de honing op in gedestilleerd water van 80° C, meng goed en filtreer door een van te voren gedroogde en gewogen glas-filterkroes G 3. Was zorgvuldig uit met warm water (80° C) tot alle suikers verdwenen zijn. Droog de kroes gedurende 1 uur bij 100-103° C, laat afkoelen en weeg tot op 0,1 mg nauwkeurig. De resultaten worden uitgedrukt in gewichtsprocenten van de droge stof.

1033

Méthode d'analyse du miel**M (68) 49, Annexe****1. Préparation de l'échantillon**

1.1. En vue de la détermination de l'indice diastasique et de la teneur en hydroxyméthylfurfural (H.M.F.), mélanger l'échantillon le mieux possible sans chauffage préalable et en prélever la quantité nécessaire à ces opérations.

1.2. Chauffer — à une température ne dépassant pas 50° C — le miel restant jusqu'à ce que sa consistance permette une homogénéisation. L'opération se fait en plongeant le récipient clos dans l'eau du bain-marie ou en le mettant dans une étuve.

Lorsque le récipient contenant le miel n'est pas en verre, transvaser tout son contenu dans un récipient en verre translucide fermant hermétiquement.

Après fusion et refroidissement, mélanger soigneusement le miel pour s'assurer que tout produit de condensation sur d'autres parties du récipient soit réincorporé.

1.3. Préparer une solution mère en dissolvant dans de l'eau distillée 50 g du miel préparé selon 1.2. et en complétant à 250 ml dans un ballon jaugé.

2. Teneur en résidu sec

Déterminer au pycnomètre la densité à 20° C de la solution mère préparée selon 1.3. Calculer le résidu sec (E) du miel en appliquant la formule suivante :

$$d \frac{20}{4} = d \frac{20}{20} \times 0,99823$$

$$E = 1302,7 \left(d \frac{20}{4} - 0,99823 \right)$$

3. Teneur en matières insolubles dans l'eau

Peser au centigramme près, une quantité appropriée de miel préparé selon 1.2., soit 20 g. Dissoudre le miel dans de l'eau distillée à 80° C, bien mélanger et filtrer dans un creuset en verre fritté G 3 préalablement séché et pesé. Laver soigneusement avec de l'eau chaude (80° C) jusqu'à élimination des sucres. Sécher le creuset pendant une heure à 100-103° C, laisser refroidir et peser à 0,1 mg près. Les résultats obtenus sont exprimés en pour-cent de poids de la substance sèche.

4. Asgehalte

Weeg 5 à 10 g van de volgens 1.2. voorbereide honing af in een van te voren gewogen platina- of kwartsschaaltje. Verhit voorzichtig tot het monster zwart en droog wordt en er geen gevaar meer bestaat voor verlies. Veras vervolgens in een moffel bij 600° C tot constant-gewicht. Laat afkoelen en weeg. Druk het resultaat uit in gewichtsprocenten van de droge stof.

5. Zuurgehalte

Weeg 10 g van de volgens 1.2. voorbereide honing af en los deze op in 75 ml koolzuurvrij gedestilleerd water.

Titreer met een 0.1 n carbonaatvrije oplossing van natriumhydroxide onder toevoeging van 4 of 5 druppels fenolphthaleïne oplossing. De kleuromslag moet gedurende 10 seconden blijven bestaan. Gebruik bij donker gekleurde monsters een pH-meter en titreer tot pH 8.3. De resultaten worden uitgedrukt in ml normaal zuur per 100 g honing.

6. Bepaling van ware saccharose

Reagentia :

— *Kaliumhexacyanoferraat (II)-oplossing* : los 106 g $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ in gedestilleerd water op en verdun tot een liter.

— *Zinkacetaat-oplossing* : los 219,5 g $(CH_3COO)_2Zn \cdot 2H_2O$ in gedestilleerd water op, voeg 30 g ijszijn toe en verdun met gedestilleerd water tot een liter.

— Azijnzuur, 20 %

— Kaliumjodide

— Zwavelzuur, 25 gew. %

— Natriumthiosulfaat, 0,1 n

— Zetmeel-oplossing, 1 %

— *Reagens volgens Luff-Schoorl* : bereid de volgende drie oplossingen :

a. 25 g kopersulfaat ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) in 100 ml water ;

b. 388 g natriumcarbonaat ($Na_2CO_3 \cdot 10H_2O$) in 300 à 400 ml water ;

c. 50 g citroenzuur ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$) in 50 ml water.

Giet oplossing c. voorzichtig bij de afgekoelde oplossing b. en roer tot geen koolzuur meer ontwijkt. Voeg aan dit mengsel onder roeren de oplossing a. toe. Laat afkoelen, verdun tot een liter en filtreer na 24 uur. De aldus bereide oplossing heeft een pH van ca. 9,9.

Controleer het reagens als volgt :

1034

4. Teneur en cendres

Dans une capsule de platine ou de silice calcinée et tarée, peser de 5 à 10 g de miel préparé selon 1.2. Chauffer prudemment jusqu'à ce que l'échantillon devienne noir et sec et qu'il n'y ait plus de risque de perte. Ensuite, calciner dans un moufle à 600° C jusqu'à poids constant. Laisser refroidir et peser. Exprimer les résultats en pourcentage de la substance sèche.

5. Acidité

Peser 10 g du miel préparé selon 1.2. et le dissoudre dans 75 ml d'eau distillée exempte de CO₂.

Titrer avec une solution de 0,1 n d'hydroxyde de sodium exempte de carbonates, en présence de 4 ou 5 gouttes de phénolphtaléine. Le virage final de la coloration doit persister pendant 10 secondes. Dans le cas des échantillons foncés, recourir à un pH-mètre et titrer jusqu'à pH 8.3.

Les résultats sont exprimés en ml d'acide normal pour 100 g de miel.

6. Dosage du saccharose vrai

Réactifs :

— *Solution d'hexacyanoferrate (II) de potassium* : dissoudre 106 g K₄Fe(CN)₆·3H₂O dans l'eau distillée et diluer jusqu'à un litre.

— *Solution d'acétate de zinc* : dissoudre 219,5 g de (CH₃COO)₂Zn·2H₂O dans de l'eau distillée, ajouter 30 g d'acide acétique et diluer à l'eau distillée jusqu'à un litre.

— Acide acétique à 20 %

— Iodure de potassium

— Acide sulfurique 25 % en poids

— Thiosulfate de sodium 0,1 n

— Empois d'amidon 1 %

— *Réactif de Luff-Schoorl* : préparer les trois solutions suivantes :

a. 25 g de sulfate de cuivre (CuSO₄·5H₂O) dans 100 ml d'eau ;

b. 388 g de carbonate de sodium (Na₂CO₃·10H₂O) dans 300 à 400 ml d'eau ;

c. 50 g d'acide citrique (C₆H₈O₇·H₂O) dans 50 ml d'eau.

Verser prudemment la solution c. dans la solution b. refroidie et brasser jusqu'à ce qu'il n'y ait plus de dégagement d'acide carbonique. Ajouter à ce mélange, tout en remuant, la solution a. Laisser refroidir, compléter à un litre et filtrer après 24 heures. La solution ainsi préparée accuse un pH d'environ 9,9.

Contrôler le réactif comme suit :

1035

aa. Voeg aan 25 ml van het reagens 3 g kaliumjodide, opgelost in weinig water, en 25 ml 25 % zwavelzuur toe. Titreer met 0,1 n natriumthiosulfaat. Voeg tegen het einde van de titratie een weinig zetmeel-oplossing toe. Het verbruik moet 25 ml 0,1 n natriumthiosulfaat bedragen.

bb. Breng in een maatkolf van 100 ml, 10 ml van het reagens en vul aan tot de maatstreep.

Meng in een konische kolf 10 ml van dit verdunde reagens met 25 ml 0,1 n zoutzuur en verwarm gedurende 1 uur op een kokend waterbad. Laat afkoelen, breng de inhoud van het kolfje met water op het beginvolume en titreer met 0,1 n NaOH met behulp van fenolftaleïen als indicator. Het verbruik moet 5,5 tot 6,5 ml 0,1 n NaOH bedragen.

cc. Titreer met 0,1 n zoutzuur en fenolftaleïen als indicator, 10 ml van het reagens verdund volgens bb. Het verbruik moet 6 tot 7,5 ml 0,1 n HCl bedragen.

— *Invertase-oplossing* : laat 25 g verse bakkersgist, gesuspendeerd in 150 ml water, bij ca. 20° C autolysen ; voeg na 8 of 15 dagen, voordat het mengsel alkalisch wordt ten opzichte van lakmoes, talk toe en filtreer. Het filtraat wordt bewaard onder toluen bij 4° C en beschermd tegen licht.

6.1. Breng 10 ml van de volgens 1.3 bereide oplossing over in een maatkolf van 200 ml en vul aan tot de maatstreep.

6.2. Breng in een maatkolf van 100 ml, 25 ml van de onder 6.1. verkregen oplossing en 25 ml water ; voeg 4 tot 5 druppels 20 % azijnzuur en 2 ml invertase-oplossing toe. Schud om, sluit de kolf met een wattenprop en plaats de kolf gedurende 2 tot 3 uur in een stoof bij 53-55° C. Koel af.

6.3. Voeg aan de onder 6.2 verkregen oplossing 2 ml kaliumhexacyanoferraat (II)-oplossing en 2 ml zinkacetaat-oplossing toe, waarbij na iedere toevoeging krachtig wordt geroerd. Vul met gedestilleerd water aan tot de maatstreep. Filtreer de vloeistof door een droog filter en verwerp de eerste gedeelten van het filtraat. Gebruik de rest van het filtraat voor de bepaling van het invertsuikergehalte volgens de methode van Luff-Schoorl als omschreven in 6.5.

6.4. Herhaal de bewerkingen, omschreven in 6.3, met 25 ml van de onder 6.1 verkregen oplossing, waaraan 25 ml water is toegevoegd. Bepaal in de rest van het filtraat het invertsuikergehalte volgens de methode van Luff-Schoorl als omschreven in 6.5.

6.5. Pipetteer 25 ml van het reagens volgens Luff-Schoorl, 5 ml water en 20 ml van het onder 6.3 of 6.4 verkregen filtraat in een konische kolf van 300 ml. Voeg enige kooksteentjes toe en verbind de kolf met een terugvloeiakoeler. Plaats de kolf op een metalen gaasje, waarop een asbestplaatje met een ronde opening, van dezelfde diameter als de bodem van de konische kolf, ligt.

1035

aa. A 25 ml de réactif ajouter 3 g d'iodure de potassium, dissous dans un peu d'eau, et 25 ml d'acide sulfurique 25 % en poids. Titrer avec du thiosulfate de sodium 0,1 n. A la fin de la titration, ajouter un peu d'empois d'amidon. La quantité de thiosulfate de sodium 0,1 n utilisée doit être de 25 ml.

bb. Dans un ballon jaugé de 100 ml, introduire 10 ml du réactif et porter au trait.

Dans un vase conique, mélanger 10 ml de ce réactif dilué et 25 ml d'acide chlorhydrique 0,1 n chauffer une heure au bain-marie bouillant. Laisser refroidir, ramener au volume initial avec de l'eau et titrer par NaOH 0,1 n en présence de phénolphthaléine. La quantité de NaOH 0,1 n utilisée doit être de 5,5 à 6,5 ml.

cc. Titrer par HCl 0,1 n en présence de phénolphthaléine, 10 ml de réactif dilué suivant bb. La quantité de HCl 0,1 n utilisée doit être de 6 à 7,5 ml.

— *Solution d'invertase* : abandonner à l'autolyse 25 g de levure pressée de boulangerie fraîche en suspension dans 150 ml d'eau à 20° C environ ; après 8 ou 15 jours, avant que le mélange ne devienne alcalin au tournesol, ajouter du talc et filtrer. Le filtrat est conservé sous toluène, à 4° C et à l'abri de la lumière.

6.1. Transférer 10 ml de la solution préparée selon 1.3 dans un ballon jaugé de 200 ml et compléter jusqu'au trait.

6.2. Introduire dans un ballon jaugé de 100 ml, 25 ml de la solution obtenue en 6.1 et 25 ml d'eau ; ajouter 4 à 5 gouttes d'acide acétique à 20 % et 2 ml de solution d'invertase. Agiter, boucher avec un tampon d'ouate et placer dans une étuve à 53-55° C pendant 2 à 3 h. Refroidir.

6.3. Ajouter à la solution obtenue en 6.2, 2 ml de la solution d'hexacyanoferrate (II) de potassium et 2 ml de la solution d'acétate de zinc en remuant vivement après chaque addition. Compléter jusqu'au trait à l'aide d'eau distillée. Filtrer le liquide sur filtre sec et rejeter les premières portions du filtrat. Utiliser les fractions suivantes pour le dosage du sucre interverti selon la méthode de Luff-Schoorl décrite en 6.5.

6.4. Répéter les opérations décrites en 6.3. sur 25 ml de la solution obtenue en 6.1., additionnée de 25 ml d'eau. Effectuer sur les dernières fractions du filtrat le dosage du sucre interverti selon la méthode de Luff-Schoorl décrite en 6.5.

6.5. Pipeter 25 ml de réactif de Luff-Schoorl, 5 ml d'eau et 20 ml du filtrat obtenu en 6.3 ou 6.4 dans un vase conique de 300 ml. Ajouter quelques fragments de pierre ponce et munir le vase conique d'un réfrigérant à reflux. Placer le récipient sur un treillis métallique recouvert d'un carton d'amiante percé d'un trou de même diamètre que le fond du vase conique.

1036

Breng de inhoud van de konische kolf binnen twee minuten tot koken en houd de inhoud gedurende precies tien minuten juist aan de kook. Indien de koper-oplossing geheel gereduceerd wordt, gaat men uit van minder van de onder 6.3 of 6.4 verkregen oplossing en voegt, na toevoeging van 25 ml van het reagens volgens Luff-Schoorl, zoveel water toe, dat het volume 50 ml bedraagt. (De bepaling geeft de beste resultaten indien de 25 ml oplossing tussen de 15 en 60 mg reducerende suikers bevatten).

6.6. Koel snel af tot 20° C. Voeg toe 3 g kaliumjodide, opgelost in weinig water, en vervolgens onder voortdurend omzwenken voorzichtig 25 ml zwavelzuur.

Titreer de oplossing direct met 0,1 n natriumthiosulfaat onder voortdurend omzwenken. Voeg tegen het einde van de titratie 1 tot 2 ml zetmeel-oplossing toe.

6.7. Voer op dezelfde wijze een blanco titratie uit, waarbij de suikeroplossing vervangen is door 25 ml water.

6.8. Bereken op de volgende wijze het gehalte aan saccharose. Verminder het aantal ml 0,1 n natriumthiosulfaat, verbruikt bij de blanco titratie met het aantal ml 0,1 n natriumthiosulfaat, verbruikt bij de bepaling. Bepaal met behulp van de tabel volgens Luff-Schoorl de hoeveelheid invertsuiker, die overeenkomt met dit verschil.

Stel m mg = deze hoeveelheid in de onder 6.3 verkregen oplossing en m' mg = deze hoeveelheid in de onder 6.4 verkregen oplossing. Het gehalte aan saccharose in de honing, uitgedrukt in gewichtsprocenten, wordt aangegeven door de formule

$2(m - m') \times 0,95$.

TABLE SELON LUFF-SCHOORL

0,1 n $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ ml	Glucose, fructose of invertsuiker mg	Vershil
1	2.4	2.4
2	4.8	2.4
3	7.2	2.5
4	9.7	2.5
5	12.2	2.5
6	14.7	2.5
7	17.2	2.6
8	19.8	2.6
9	22.4	2.6
10	25.0	2.6
11	27.6	2.7
12	30.3	2.7
13	33.0	2.7

1036

Porter le contenu du vase conique à ébullition en deux minutes et maintenir pendant exactement dix minutes en ébullition modérée.

Si toute la solution cuivrique est réduite, diminuer la quantité de solution obtenue selon 6.3 ou 6.4 et, après adjonction de 25 ml de réactif de Luff-Schoorl, ajouter de l'eau de façon que le volume atteigne 50 ml. (Le dosage donne les meilleurs résultats lorsque les 25 ml de solution contiennent entre 15 et 60 mg de sucre réducteur).

6.6. Refroidir rapidement jusqu'à 20° C. Ajouter 3 g d'iodure de potassium dissous dans un peu d'eau, puis ajouter prudemment, tout en agitant continuellement, 25 ml d'acide sulfurique.

Titrer immédiatement la solution par le thiosulfate de sodium 0,1 n en agitant continuellement. Vers la fin de la titration, ajouter 1 à 2 ml d'empois d'amidon.

6.7. Exécuter de la même manière un essai à blanc, en remplaçant la solution sucrée par 25 ml d'eau.

6.8. Calculer de la manière suivante la teneur en saccharose. Retrancher le nombre de ml de thiosulfate de sodium 0,1 n utilisés pour le dosage, du nombre de ml de thiosulfate de sodium utilisés pour l'essai à blanc. Chercher à l'aide de la table de Luff-Schoorl la quantité de sucre interverti correspondant à la différence.

Soit m mg cette quantité dans la solution obtenue en 6.3

et m' mg cette quantité dans la solution obtenue en 6.4.

La teneur du miel en saccharose, exprimée en g pour cent, est donnée par la formule

$$2 (m - m') \times 0,95.$$

6.9. TABEL VOLGENS LUFF-SCHOORL

0,1 n Na ₂ S ₂ O ₃ ml	Glucose, fructose ou sucre interverti mg	Différence
1	2.4	2.4
2	4.8	2.4
3	7.2	2.5
4	9.7	2.5
5	12.2	2.5
6	14.7	2.5
7	17.2	2.6
8	19.8	2.6
9	22.4	2.6
10	25.0	2.6
11	27.6	2.7
12	30.3	2.7
13	33.0	2.7

1037

14	35.7	2.8
15	38.5	2.8
16	41.3	2.9
17	44.2	2.9
18	47.1	2.9
19	50.0	3.0
20	53.0	3.0
21	56.0	3.1
22	59.1	3.1
23	62.2	

7. Aantonen van kunstmatige zoetstoffen

Lijst der reagentia en hulpmiddelen

- natriumsulfaat-oplossing : verzadigd
- watervrij natriumsulfaat
- ethylacetaat
- ethanol p.a. 96 %
- ethanol-water 1:1
- zwavelzuur 4 n
- Oplossingen van de kunstmatige zoetstoffen :

cyclamaatoplossing : 100 mg natriumcyclamaat oplossen in 100 ml van het ethanol-water mengsel

dulcine-oplossing : 100 mg dulcine oplossen in 100 ml ethanol

saccharine-oplossing : 100 mg saccharine oplossen in 100 ml ethanol.

Platen voor dunnelaagchromatografie

Meng in een mixer 9 g 10 % geacetyleerde cellulose (MN 300 Ac Macherey-Nagel & Co) en 6 g polyamidepoeder voor dunnelaagchromatografie (Woelm of gelijkwaardig) met 60 ml ethanol tot een homogene suspensie. Breng deze suspensie met een laagdikte van 0,25 mm aan op de platen voor dunnelaagchromatografie. Laat drogen aan de lucht, vervolgens 10 min. op 70° C in de droogstoof. Koel de platen af in een exsiccator.

— Loopvloeistof : meng 45 vol. Shell sol. A, * - 6 vol. n-propanol, 7 vol. azijnzuur en 2 vol. mierzuur. Bereid op het ogenblik van het gebruik. Voorzie chromatografie-kamer van filterpapier ter verzadiging van de kamer.

— Detectiemiddel : Los 200 mg dichloorfluoresceïen op in 100 ml ethanol.

*) Shell sol. A, is een mengsel van koolwaterstoffen dat door Shell in de handel wordt gebracht.

1037

14	35.7	2.8
15	38.5	2.8
16	41.3	2.9
17	44.2	2.9
18	47.1	2.9
19	50.0	3.0
20	53.0	3.0
21	56.0	3.1
22	59.1	3.1
23	62.2	

7. Recherche des édulcorants synthétiques

Liste des réactifs et produits accessoires

- solution saturée de sulfate de sodium
- sulfate de sodium anhydre
- acétate d'éthyle
- éthanol p.a. 96 %
- éthanol-eau 1:1
- acide sulfurique 4 n
- Solutions d'édulcorants synthétiques :

solution de cyclamate : dissoudre 100 mg de cyclamate de soude dans 100 ml du mélange éthanol-eau

solution de dulcine : dissoudre 100 mg de dulcine dans 100 ml d'éthanol

solution de saccharine : dissoudre 100 mg de saccharine dans 100 ml d'éthanol.

Plaques pour chromatographie sur couche mince

Dans un mixer mélanger 9 g de cellulose acétylée à 10 % (MN-300 Ac Macherey-Nagel & C^o) 6 g de poudre de polyamide pour chromatographie sur couche mince (Woelm ou équivalent) avec 60 ml d'éthanol jusqu'à suspension homogène. Étendre une couche de 0,25 mm sur des plaques pour chromatographie. Laisser sécher à l'air, puis 10 min. dans une étuve à 70° C. Refroidir les plaques dans un exsiccateur.

— Phase mobile : mélanger 45 vol. de Shell sol. A, *) 6 vol. de n-propanol, 7 vol. d'acide acétique et 2 vol. d'acide formique. A préparer extemporanément. Garnir l'intérieur de la cuvette avec du papier filtre pour favoriser la saturation de l'atmosphère.

— Révélateur : dissoudre 200 mg de dichlorofluorescéine dans 100 ml d'éthanol.

*) Le Shell sol. A, est un mélange d'hydrocarbure commercialisé par Shell.

7.1. Isolatie

7.1.1. Los 20 g honing op in 40 ml verzadigde Na_2SO_4 -oplossing, voeg toe 10 ml H_2SO_4 4 n en 10 ml ethanol 96 % en meng.

7.1.2. Schud dit mengsel driemaal uit met telkens 25 ml ethylacetaat.

7.1.3. Droog de verzamelde ethylacetaat-extracten op watervrij Na_2SO_4 en damp in tot 4 ml.

7.2. Identificatie

7.2.1. Breng 3 μl van de verkregen oplossing op de startlijn van een plaat voor dunnelaagchromatografie.

7.2.2. Breng vervolgens 2 μl van de cyclamaat-, de dulcine- en de saccharine-oplossing op de startlijn.

7.2.3. Elueer de plaat met vers bereide loopvloeistof tot de afstand tussen startlijn en het front 10 cm bedraagt.

7.2.4. Bespuit de plaat na verdampen van de loopvloeistof met het detectiemiddel.

7.2.5. Beschouw het zo verkregen chromatogram in ultraviolet licht (254 nm).

8. Aantonen van conserveermiddelen

Lijst van reagentia

— Aangezuurde ether: 98 vol. ether + 2 vol. ijszijn.

— Watervrij natriumsulfaat

— Standaard-oplossingen: 1 % in ethanol.

— Platen voor dunnelaagchromatografie: meng met een mixer 15 g Kieselgel G en 15 g Kieselgur G met 60 ml van een 0,02 % waterige Ultraphoroplossing.

De Ultraphor W.T. (B.A.S.F.) moet regelmatig vernieuwd worden (bewaren in bruine fles). Breng het homogene mengsel met een laagdikte van 0,25 mm aan op de dunnelaagplaten. Droog de platen aan de lucht en activeer vervolgens door verwarming op 110° C gedurende 30 minuten.

— Loopvloeistof: meng 100 vol. petroleumether, 40 vol. chloroform en 10 vol. mierzuur.

— Chromatografiekamer: verzadigd met de loopvloeistof.

Detectiemiddelen

— Benzoëzuur:

a) 4,5 ml H_2O_2 (30 %)
4,5 ml water

1038

7.1. Isolement

7.1.1. Dissoudre 20 g de miel dans 40 ml de solution saturée de Na_2SO_4 , y ajouter 10 ml de H_2SO_4 4 n et 10 ml d'éthanol 96 % et mélanger

7.1.2. Extraire à trois reprises, chaque fois par 25 ml d'acétate d'éthyle.

7.1.3. Réunir les extraits d'acétate d'éthyle, les sécher sur du Na_2SO_4 anhydre et évaporer jusqu'à 4 ml.

7.2. Identification

7.2.1. Déposer 3 μl de la solution obtenue, sur la ligne de départ d'une plaque pour chromatographie sur couche mince.

7.2.2. Déposer ensuite 2 μl des solutions de cyclamate, de dulcine et de saccharine sur la ligne de départ.

7.2.3. Eluer la plaque à l'aide de la phase mobile préparée extemporanément jusqu'à ce que la distance entre la ligne de départ et le front atteigne 10 cm.

7.2.4. Vaporiser le révélateur sur la plaque après évaporation de la phase mobile.

7.2.5. Examiner le chromatogramme ainsi obtenu à la lumière ultraviolette (254 nm).

8. Recherche des antiseptiques

Liste des réactifs

— Ether acidifié : 98 vol. éther + 2 vol. d'acide acétique glacial

— Sulfate de sodium anhydre

— Solutions témoins : 1 % dans l'éthanol

— Plaques pour chromatographie en couche mince : mélanger 15 g de Kieselgel G et 15 g de Kieselgur G avec 60 ml d'une solution aqueuse à 0,02 % d'Ultraphor. La solution d'Ultraphor W.T. (B.A.S.F.) doit être de préparation récente (conserver dans un flacon brun). Étaler le mélange homogène sur des plaques pour chromatographie sous une épaisseur de 0,25 mm. Sécher les plaques à l'air, puis les activer par chauffage de 30 min. à 110° C.

— Phase mobile : mélanger 100 vol. d'éther de pétrole, 40 vol. de chloroforme et 10 vol. d'acide formique.

— Cuve de chromatographie : saturée avec le solvant mobile.

Révélateurs

— Acide benzoïque :

a) 4,5 ml H_2O_2 (30 %)
4,5 ml d'eau

1 ml $Mn SO_4$ verzadigd

b) 0,3 % $Fe SO_4$ oplossing

— Sorbinezuur :

a) meng 5 vol. van een waterige 0,5 % $K_2Cr_2O_7$ oplossing + 5 vol. H_2SO_4 0,3 n

b) verzadigde thiobarbituurzuuroplossing in water.

— Salicylzuur : 0,1 % waterige $FeCl_3$ oplossing.

— Dehydroazijnzuur : 0,1 % waterige $FeCl_3$ oplossing.

— Broomazijnzuur :

a) meng 3 vol. van een fenolroodoplossing (24 mg phenolrood in 2,4 ml $NaOH$ 0,1 n, aanvullen tot 100 ml met aceton) met 1 vol. natriumacetaatoplossing (6 g natriumacetaat + 3 vol. azijnzuur, aanvullen met water tot 100 ml).

b) chloramine T oplossing : los 25 mg chloramine T op in 15 ml van een mengsel aceton-water 1 : 1.

— Parahydroxybenzoëzuur en zijn esters : Millon's reagens. Los 10 g kwik op in 10 g rokend salpeterzuur. Voeg 10 à 20 ml water toe. Filtreer het eventuele neerslag af.

8.1. Isolatie

8.1.1. Schud 50 ml van de volgens 1.3. bereide oplossing met 50 ml van de aangezuurde ether gedurende 3 minuten.

8.1.2. Laat staan tot de lagen zich afgescheiden hebben, scheid de etherlaag af op een filter. Herhaal de extractie met resp. 30 en 20 ml aangezuurde ether.

8.1.3. Droog de verzamelde etherische extracten op watervrij Na_2SO_4 . Filtreer. Damp af tot ongeveer 5 ml.

8.2. Identificatie

8.2.1. Breng op de startlijn van de chromatografieplaat met 20 μl van de verkregen oplossing, een 1,5 cm lange streep aan. Doe hetzelfde met 10 μl van de benzoëzuuroplossing, 5 μl van de dehydroazijnzuuroplossing en 3 μl van de andere standaarden.

8.2.2. Ontwikkel de plaat met de loopvloeistof totdat de afstand tussen startlijn en het front 15 cm bedraagt. Neem de plaat uit, droog aan de lucht. Ontwikkel een tweede maal op dezelfde wijze.

8.2.3. Bekijk de plaat onder U.V. (366 nm). Markeer de vlekken.

8.2.4. Zichtbaar maken van de chromatogrammen

1039

1 ml solution saturée de $Mn SO_4$

b) solution 0,3 % $Fe SO_4$

— Acide sorbique :

a) mélanger 5 vol. d'une solution aqueuse de $K_2Cr_2O_7$ 0,5 % + 5 vol. H_2SO_4 0,3 n

b) solution saturée d'acide thiobarbiturique sans l'eau.

— Acide salicylique : solution de $FeCl_3$ 0,1 % dans l'eau

— Acide déhydroacétique : solution de $FeCl_3$ 0,1 % dans l'eau

— Acide bromoacétique :

a) mélanger 3 vol. de solution de rouge de phénol (24 mg rouge de phénol dans 2,4 ml $NaOH$ 0,1 n, compléter à 100 ml avec de l'acétone) et 1 vol. de solution d'acétate sodique (6 g d'acétate de sodium + 3 vol. d'acide acétique, compléter à 100 ml avec de l'eau).

b) solution de chloramine T : dissoudre 25 mg de chloramine T dans 15 ml d'un mélange d'acétone-eau 1 : 1.

— Acide parahydroxybenzoïque et ses esters : réactif de Millon. Dissoudre 10 g mercure dans 10 g acide nitrique fumant. Ajouter 10 à 20 vol. d'eau. Eventuellement, filtrer le dépôt.

8.1. Isolement

8.1.1. Agiter pendant 3 minutes, 50 ml de la solution préparée selon 1.3. avec 50 ml d'éther acidifié.

8.1.2. Laisser se séparer les couches et décanter la couche étherée sur filtre. Répéter l'extraction à l'aide de 30 puis de 20 ml d'éther acidifié.

8.1.3. Sécher les extraits étherés réunis sur du Na_2SO_4 anhydre. Filtrer. Evaporer jusqu'à 5 ml environ.

8.2. Identification

8.2.1. Sur la ligne de départ de la plaque chromatographique, déposer en traits de 1,5 cm de long 20 μl de la solution obtenue. Déposer de façon identique sur un même trait 10 μl de la solution d'acide benzoïque, 5 μl de la solution d'acide déhydroacétique et 3 μl des autres témoins.

8.2.2. Développer la plaque avec la phase mobile jusqu'à ce que le front de solvant atteigne 15 cm au-dessus de la ligne de départ. Retirer la plaque, laisser sécher à l'air. Développer une deuxième fois de la même manière.

8.2.3. Examiner la plaque sous lumière U.V. (366 nm). Localiser les spots.

8.2.4. Révélation des chromatogrammes

Benzoëzuur : Bespuit met de oplossing a ; droog en bespuit met de oplossing b. Benzoëzuur geeft een bruine vlek op witte achtergrond.

Sorbinezuur : bespuit met het $K_2Cr_2O_7 + H_2SO_4$ mengsel ; droog de plaat in de droogstoof, verstuif de thiobarbituurzuur-oplossing, droog opnieuw. Sorbinezuur geeft een rose vlek.

Salicylzuur : bespuit met ijzer (III) chlorideoplossing. Salicylzuur geeft een violette vlek.

Dehydroazijnzuur : bespuit met ijzer (III) chlorideoplossing. Dehydroazijnzuur geeft een gele kleur op witte achtergrond.

Monobroomazijnzuur : stel de plaat 10 min. bloot aan amoniakdampen, verwarm 10 min. op 100° C om de overmaat ammoniak te verdrijven. Bespuit met fenolrood natriumacetaatmengsel, vervolgens met de chloramine T oplossing. Monobroomazijnzuur geeft een blauwe vlek op gele achtergrond.

p. Hydroxybenzoëzuur en zijn esters : bespuit met Millon's reagens en verwarm in de droogstoof. p. Hydroxybenzoëzuur en zijn esters geven een rode vlek.

8.2.5. Algemene opmerkingen

1) Het is aan te raden de detectiemiddelen te verstuiven in kleine hoeveelheden. Verwarm indien de reactie geen duidelijk resultaat geeft, in een stoof van 100° C. Bespuit en verwarm zonodig een tweede en zelfs een derde maal.

2) Spuit het detectiemiddel slechts op de zone van het chromatogram waar zich het gezochte conserveermiddel kan bevinden ; dek de rest van de plaat af.

3) Bekijk de platen in U.V. licht golflengte 366 n.m.

9. Fermenterende eigenschappen

Reagentia

— Bufferoplossing (pH = 5,3) :

los 43,5 g natriumacetaat ($CH_3COONa \cdot 3H_2O$) en 4,5 ml ijsazijn op in vers uitgekookt gedestilleerd water en vul aan tot 250 ml met hetzelfde gedestilleerd water. Langere tijd houdbaar.

— Natriumchlorideoplossing 0,5 mol. :

los 2,92 g NaCl op in vers uitgekookt gedestilleerd water en vul aan tot 100 ml. Houdbaarheid slechts enkele dagen (schimmelt).

— Zetmeeloplossing 2 % :

(gebruik voor de bereiding van dit reagens het volgens 9.1 t/m 9.4 bereide en gestandaardiseerde oplosbare zetmeel.)

Weeg zoveel oplosbaar zetmeel af, als overeenkomt met 2,000 g dröge stof en breng dit in een maatkolf van 100 ml. Voeg 5 ml bufferoplossing en ongeveer 75 ml gedestilleerd water toe. Suspender het zetmeel

1040

Acide benzoïque : vaporiser avec la solution a ; sécher et vaporiser avec la solution b. L'acide benzoïque donne une tache brune sur fond blanc.

Acide sorbique : vaporiser avec le mélange $K_2Cr_2O_7 + H_2SO_4$, sécher la plaque à l'étuve, vaporiser la solution d'acide thiobarbiturique, chauffer à nouveau. L'acide sorbique donne une tache rose.

Acide salicylique : vaporiser avec la solution de chlorure ferrique. L'acide salicylique donne une coloration violette.

Acide déhydroacétique : vaporiser avec la solution de chlorure ferrique. L'acide déhydroacétique donne une coloration jaune sur fond blanc.

Acide monobromacétique : exposer la plaque 10 min. à des vapeurs d'ammoniaque ; chauffer 10 min. à 100° C pour éliminer l'excès d'ammoniaque. Vaporiser le mélange rouge de phénol, acétate sodique puis directement la solution de chloramine T. L'acide monobromacétique donne une tache bleue sur fond jaune.

Acide p. hydroxybenzoïque et ses esters : vaporiser le réactif de Millon et chauffer à l'étuve. L'acide p. hydroxybenzoïque et ses esters donnent une tache rouge.

8.2.5. Remarques générales

- 1) Il est préférable de vaporiser les réactifs en très faible quantité. Si la réaction n'est pas suffisamment nette, chauffer à l'étuve à 100° C. Si nécessaire recommencer la vaporisation, suivie de chauffage une deuxième et même une troisième fois.
- 2) Vaporiser le réactif spécifique uniquement sur la zone du chromatogramme où peut se trouver l'antiseptique recherché ; couvrir le reste de la plaque.
- 3) Examiner les plaques sous U.V. longueur d'onde 366 n.m.

9. Propriétés fermentatives

Réactifs

— Solution tampon (pH = 5,3) : dissoudre 43,5 g d'acétate de sodium ($CH_3COONa \cdot 3H_2O$) dans de l'eau distillée fraîchement bouillie, ajouter 4,5 ml d'acide acétique glacial et compléter à 250 ml avec la même eau distillée. Cette solution peut se conserver longtemps.

— Solution de chlorure de sodium 0,5 mol. : dissoudre 2,92 g de NaCl dans de l'eau distillée fraîchement bouillie et compléter à 100 ml. Cette solution ne se conserve que quelques jours (moisissures).

— Solution d'amidon 2 % : (utiliser pour la préparation de ce réactif de l'amidon soluble préparé et standardisé selon 9.1 à 9.4.) Peser une quantité d'amidon correspondant à 2,000 g de matière desséchée ; l'introduire dans un ballon jaugé de 100 ml. Ajouter 5 ml de solution tampon et environ 75 ml d'eau distillée. Mettre l'amidon en suspension dans le liquide et chauffer dans un bain-marie bouillant pendant 5 min.

1041

in de vloeistof en verhit gedurende 5 min. in een kokend waterbad. Bij het begin van het verhitten wordt de maatkolf voortdurend omgezwinkt totdat het zetmeel opgelost is. Koel af en vul aan tot de maatstreep.

Houdbaarheid: 24 h.

— Zoutzuur: 1 n.

— Zoutzuur 0,1 n.

— Jodiumoplossing 0,02 n.

— Jodiumoplossing 0,0007 n.

Los, in een maatkolf van 100 ml, 4 g. kaliumjodide op in een weinig uitgekookt gedestilleerd water. Voeg 0,70 ml 0,1 n jodiumoplossing toe, meng en vul aan tot de maatstreep met gekookt gedestilleerd water.

Houdbaarheid: enkele dagen.

9.1. Bereiding oplosbaar zetmeel

9.1.1. 20 g Aardappelzetmeel worden in een konische kolf met een mengsel van 100 ml 95 % ethanol en 7 ml zoutzuur 1 n 1 uur lang in een waterbad onder terugvloeiokoeling gekookt. koel af, filtreer door een filterkroes (poriënwiidte 90 — 150 μ) en was met water uit tot het waswater geen chloride-reactie meer geeft. Zuig scherp af en droog het zetmeel aan de lucht bij 35° C.

9.2. Bepaling van het vochtgehalte van het oplosbaar zetmeel

9.2.1. Weeg nauwkeurig ongeveer 2 g oplosbaar zetmeel, in een dunne laag op de bodem van een plat weegflesje (\varnothing 5 cm), af.

9.2.2. Droog 1½ h. bij 130° C. Laat afkoelen in een exsiccator en weeg terug. Het per 100 g berekend gewichtsverlies wordt als het vochtgehalte beschouwd.

9.3. Bepaling van de blauw-waarde van oplosbaar zetmeel

9.3.1. Breng in een maatkolf van 100 ml zoveel luchtdroog oplosbaar zetmeel als overeenkomt met 1,000 g droge stof. Voeg toe 80 ml water en 2,5 ml bufferoplossing en slib op. Verhit vervolgens de maatkolf in een kokend waterbad gedurende 5 minuten onder voortdurend omzwenken tot het zetmeel is opgelost. Koel af en vul aan tot de maatstreep.

9.3.2. In een maatkolf van 100 ml brengt men achtereenvolgens ongeveer 75 ml gedestilleerd water, 1,0 ml zoutzuur 1 n en 1,50 ml jodiumoplossing 0,02 n. Daarna voegt men onder voortdurend omzwenken met een maatpipet 0,5 ml zetmeeloplossing 9.3.1. toe, vult aan tot de maatstreep, meng zorgvuldig en laat 1 h in het donker staan.

1041

Au début du chauffage le ballon est continuellement agité en lui imprimant un mouvement de rotation jusqu'à ce que l'amidon soit dissout. Refroidir et compléter au trait de jauge.

Conservation : 24 heures.

- Acide chlorhydrique 1 n.
- Acide chlorhydrique 0,1 n.
- Solution d'iode 0,02 n.
- Solution d'iode 0,0007 n.

Dans un ballon jaugé de 100 ml dissoudre 4 g d'iodure de potassium au moyen d'une petite quantité d'eau distillée bouillie. Y ajouter 0,70 ml de solution d'iode 0,1 n, mélanger et compléter au trait de jauge avec de l'eau distillée bouillie.

Conservation : quelques jours.

9.1. Préparation de l'amidon soluble

9.1.1. Dans un récipient conique plongé dans un bain-marie et muni d'un réfrigérant à reflux, faire bouillir pendant 1 heure, 20 g de fécule de pommes de terre en présence d'un mélange de 100 ml d'éthanol à 95 % et 7 ml d'acide chlorhydrique 1 n. Refroidir, filtrer sur creuset filtrant (porosité 90 — 150 μ) et laver à l'eau jusqu'à ce que l'eau de lavage ne donne plus de réaction des chlorures. Essorer à fond et sécher l'amidon à l'air à 35° C.

9.2. Détermination de la teneur en humidité de l'amidon soluble

9.2.1. Peser exactement une quantité voisine de 2 g d'amidon soluble, répartir en couche mince sur le fond d'un pèse-filtre (\varnothing 5 cm).

9.2.2. Sécher pendant 1½ h à 130° C. Laisser refroidir dans un exsiccateur et peser à nouveau. La perte de poids rapportée à 100 g constitue la teneur en humidité.

9.3. Détermination de l'indice de bleuissement de l'amidon soluble

9.3.1. Introduire dans un ballon jaugé de 100 ml une quantité d'amidon soluble correspondant à 1,000 g de matière sèche. Ajouter 80 ml d'eau et 2,5 ml de solution-tampon et mettre en suspension. Chauffer ensuite le ballon en le plongeant dans un bain-marie bouillant durant 5 minutes. Agiter continuellement par rotation jusqu'à ce que l'amidon soit dissout. Refroidir et compléter jusqu'au trait de jauge.

9.3.2. Introduire successivement dans un ballon jaugé de 100 ml environ 75 ml d'eau distillée, 1,0 ml d'acide chlorhydrique n et 1,5 ml de solution d'iode 0,02 n. Ensuite, ajouter sous agitation continue et au moyen d'une pipette jaugée 0,5 ml de solution d'amidon selon 9.3.1, compléter au trait de jauge, mélanger soigneusement et laisser reposer pendant 1 h à l'abri de la lumière.

1042

9.3.3. Na 60 tot 80 min. wordt in een 2 cm cuvet bij 20° C en bij een golflengte van 575 nm de extinctie E_1 gemeten. De cuvet moet onmiddellijk voor de meting door plaatsen in het water van de thermostaat op 20° C gebracht worden.

9.3.4. Een zelfde blanco proef (zonder zetmeel) wordt gelijktijdig uitgevoerd. Gemeten extinctie E_2 .
De blauw-waarden van het onderzocht oplosbare zetmeel is dan gelijk aan $E_1 - E_2$.

9.4. Voorbereiding van het standaard zetmeel

Zetmeel met verschillende blauw-waarden verkrijgt men uit aardappelmeel van verschillende herkomst of door variëren van de verhittingstijd of de zoutzuurconcentratie. Door vermenging van zetmeelsoorten met verschillende blauw-waarden bereidt men een standaardmonster dat een blauw-waarde $1 \pm 0,1$ heeft.

9.5. Bepaling van het diastasegetal (D.G.)

Het D.G. geeft aan hoeveel amylase-eenheden in 1 g honing aanwezig zijn. Een eenheid is die enzyme-hoeveelheid (α -amylase) die in 1 uur 0,010 g zetmeel afbreekt tot het vastgestelde eindpunt (transmissie 50 %).

9.5.1. Opmerking :

- a) Voor de bereiding van alle oplossingen moet vers uitgekookt gedestilleerd water worden gebruikt.
- b) Alle pipetten worden aan de bovenzijde voorzien van watteproppen, teneinde besmetting met sporen speeksel te voorkomen.

9.5.2. Bereiding gebufferde honingstamoplossing 20 %

Weeg 5,00 g van het volgens 1.1 voorbereide honingmonster af in een klein bekerglas en meng met een weinig water.
Voeg toe 2,5 ml acetaatbuffer en spoel over in een maatkolf van 25 ml. Voeg 1,5 ml NaCl-oplossing toe en vul aan tot de maatstreep. Voor de bepaling van het D.G. moet steeds een vers bereide honingoplossing gebruikt worden (hoogstens 6 u oud).

9.6. Bepaling van het eind-volume

9.6.1. Het eindvolume moet vooraf bepaald worden en heeft voor ieder zetmeelpreparaat zijn eigen constante waarde.

9.6.2. Maak een verdunde zetmeeloplossing door 5 ml 2 % zetmeeloplossing te pipetteren bij 10 ml afgepipetteerd water en meng.

9.6.3. Pipetteer 5,0 ml 0,1 n zoutzuur in een schudcilinder van 50 ml (of in een wijde reageerbuis) met ingeslepen stop.

1042

9.3.3. Après 60 à 80 minutes mesurer l'extinction E_1 en cuvette de 2 cm à la température de 20° C et à la longueur d'onde de 575 nm. Porter la cuvette à la température de 20° C en la plaçant dans l'eau du thermostat immédiatement avant la mesure.

9.3.4. Effectuer en même temps un essai identique à blanc (sans amidon). Mesurer l'extinction E_2 . L'indice de bleuissement de l'amidon soluble examiné est égal à $E_1 - E_2$.

9.4. Préparation de l'amidon standard

On obtient des amidons possédant des indices de bleuissement différents en utilisant des féculés de pommes de terre de provenances différentes ou en variant le temps de chauffage ou la concentration d'acide chlorhydrique. En mélangeant des amidons d'indices de bleuissement différents, préparer un échantillon standard possédant un indice de bleuissement de $1 \pm 0,1$.

9.5. Détermination de l'indice diastatique (I.D.)

L'I.D. correspond au nombre d'unités d'amylase présentes dans 1 g de miel. Une unité correspond à la quantité d'enzyme (α -amylase) qui, en 1 heure de temps, hydrolyse 0,010 g d'amidon jusqu'au stade final fixé (transmission 50 %).

9.5.1. Remarques :

- a) Utiliser de l'eau distillée fraîchement bouillie pour toutes les préparations.
- b) Garnir la partie supérieure des pipettes d'un tampon d'ouate afin d'éviter toute contamination par des traces de salive.

9.5.2. Préparation de la solution de base à 20 % de miel

Peser dans un petit béccher 5,00 g de l'échantillon de miel préparé selon 1.1 et mélanger avec un peu d'eau.

Ajouter 2,5 ml de tampon acétate et transvaser dans un ballon jaugé de 25 ml.

Ajouter 1,5 ml de solution de NaCl et compléter au trait. Pour la détermination de l'I.D. utiliser toujours une solution de miel fraîchement préparée (depuis 6 h au maximum).

9.6. Détermination du volume final

9.6.1. Le volume final doit être déterminé à l'avance ; il a une valeur constante propre pour chaque préparation d'amidon.

9.6.2. Faire une solution d'amidon diluée en ajoutant au moyen d'une pipette 5 ml de solution d'amidon 2 % à 10 ml d'eau et mélanger.

9.6.3. Pipeter 5,0 ml d'acide chlorhydrique 0,1 n dans une éprouvette bouchée émeri de 50 ml (ou un tube à essai bouché émeri de même contenance).

1043

9.6.4. Pipetteer hierbij 0,5 ml verdunde zetmeeloplossing 9.6.2. en pipetteer met een vol-pipet, onder voortdurend omzwenken, hierbij nog 5,0 ml 0,0007 n jodiumoplossing.

9.6.5. Laat uit een 50 ml buret (portiesgewijze) zo veel water toevoelen dat de oplossing een extinctie van 1,75 tot 1,77 heeft.

9.6.6. Meet de extinctie telkens na het toevoegen van iedere portie water, in 2 cm cuvetten bij 575 nm en 20° C tegen een blanco proef met 5,0 ml jodiumoplossing die ongeveer tot het te verwachten eindvolume verdund is.

Giet na iedere meting de inhoud van de cuvet in de schudcilinder terug. Spoel na iedere watertoevoeging de cuvet na met de nieuw verkregen oplossing er voor zorgend dat geen druppel vloeistof verloren gaat.

9.6.7. Herhaal de proef ter controle als volgt :

voeg aan 5,0 ml 0,1 n zoutzuur achtereenvolgens toe 0,5 ml verdunde zetmeeloplossing 9.6.2., daarna de volgens 9.6.5. tot en met 9.6.6. bepaalde hoeveelheid water en tenslotte onder omzwenken 5,0 ml jodiumoplossing 0,0007 n.

9.6.8. Laat deze oplossing één uur in het donker staan, vul de cuvet en plaats deze in het water van de thermostaat van 20,0° C. totdat de inhoud der cuvet deze temperatuur bereikt heeft.

9.6.9. Bepaal de extinctie. Corrigeer zo nodig het eindvolume.

9.7. Amylase-bepaling

9.7.1. Pipetteer in een schudcilinder (met glazen stop) van \pm 25 ml 10,0 ml 20 % honingoplossing 9.5.2.

9.7.2. Vul een andere schudcilinder met de 2 % zetmeeloplossing.

9.7.3. Plaats beide afgesloten cylinders in het water van de thermostaat van 40,0° C (verzwaar met lood).

9.7.4. Pipetteer, nadat beide vloeistoffen op temperatuur zijn gekomen, 5,0 ml van 2 % zetmeeloplossing bij de 10,0 ml honingoplossing, roer grondig om en noteer de tijd (begintijd).

9.7.5. Pipetteer na verloop van bepaalde tijden (afhankelijk van het diastatisch vermogen, alle 2 tot 6 minuten) met een 1 ml pipet, 0,50 ml van het reactiemengsel in een schudcilinder van 50 ml inhoud of een reageerbuis, met ingeslepen stop, waarin zich 5,00 ml 0,1 n zoutzuur bevindt. (Door het zoutzuur wordt de enzymwerking direct onderbroken).

9.7.6. Noteer telkens de overeenstemmende reactietijden.

1043

9.6.4. Ajouter 0,5 ml de solution d'amidon diluée selon 9.6.2. et, au moyen d'une pipette contrôlée, en agitant constamment par rotation, 5,0 ml de solution d'iode 0,0007 n.

9.6.5. D'une burette de 50 ml, ajouter par portions successives la quantité d'eau nécessaire pour obtenir une solution possédant une extinction de 1,75 à 1,77.

9.6.6. Mesurer l'extinction, après chaque addition d'eau, en cuvette de 2 cm à la température de 20° C et à la longueur d'onde de 575 nm, et par rapport à un essai à blanc obtenu en diluant 5,0 ml de solution d'iode approximativement au volume final présumé.

Après chaque mesure, réserver le contenu de la cuvette dans l'éprouvette. Après chaque addition d'eau, rincer la cuvette avec la nouvelle solution obtenue. Faire attention de ne perdre aucune goutte de liquide.

9.6.7. Pour contrôle répéter l'essai comme suit :

ajouter successivement à 5,0 ml d'acide chlorhydrique 0,1 n, 0,5 ml de solution d'amidon diluée 9.6.2., ensuite le volume d'eau déterminé selon 9.6.5. à 9.6.6. Ajouter enfin en agitant 5,0 ml de solution d'iode 0,0007 n.

9.6.8. Laisser cette solution au repos et à l'abri de la lumière pendant 1 heure, remplir la cuvette et la placer dans l'eau du thermostat à 20,0° C jusqu'à ce que le contenu de la cuvette atteigne cette température.

9.6.9. Déterminer l'extinction. Corriger le volume final si nécessaire.

9.7. Détermination de la teneur en amylase

9.7.1. Pipeter dans une éprouvette bouchée émeri de ± 25 ml, 10,0 ml de solution de miel à 20 % selon 9.5.2.

9.7.2. Remplir une autre éprouvette avec la solution d'amidon à 2 %.

9.7.3. Placer les deux éprouvettes fermées dans l'eau du thermostat à 40,0° C (lester au moyen de plomb).

9.7.4. Quand les deux solutions ont la même température, ajouter au moyen d'une pipette 5,0 ml de la solution d'amidon 2 % aux 10 ml de la solution de miel, bien agiter et noter le temps (initial).

9.7.5. Après des périodes de temps déterminées (toutes les 2 à 6 minutes selon le pouvoir enzymatique), pipeter au moyen d'une pipette de 1 ml, 0,50 ml du mélange en réaction, les introduire dans un cylindre de 50 ml bouché émeri ou un tube à essai de même capacité, contenant déjà 5 ml d'acide chlorhydrique 0,1 n. (L'action enzymatique est immédiatement interrompue par l'acide chlorhydrique).

9.7.6. Noter chaque fois les temps de réaction correspondants.

9.7.7. Voeg vervolgens de volgens 9.6.7. bepaalde hoeveelheid water toe, meng en voeg, onder voortdurend omzwenken 5,0 ml 0,0007 n jodiumoplossing toe.

9.7.8. Ga zo lang door volgens 9.7.5. totdat toevoeging van de jodiumoplossing slechts een geelbruine verkleuring geeft (transmissie is dan ongeveer 60 à 70 %).

9.7.9. Laat na het mengen de schudcilinders een uur in het donker staan.

9.7.10. Doe een blancoproef met dezelfde reagentia, waarbij i.p.v. de honing 0,5 ml water genomen wordt.

9.7.11. Meet de extincties op de manier als aangegeven onder 9.3.3. en 9.3.4. Druk de metingen als transmissie uit.

9.8. Berekening van het diastase-getal (D.G.)

9.8.1. Zet op millimeterpapier de reactietijd in minuten uit tegen de transmissie. (Tussen 35 en 70 % transmissie verloopt de kurve practisch lineair).

9.8.2. Lees de reactietijd (t) af, welke overeenkomt met 50 % transmissie. Om deze met voldoende nauwkeurigheid te bepalen is het voldoende 3 tot 4 punten van de kurve tussen 35 tot 70 % transmissie te bepalen.

9.8.3. Het diastasegetal is :

$$D.G. = \frac{60}{t} \cdot \frac{0,10}{0,01} \cdot \frac{1,0}{2,0} = \frac{300}{t}$$

t = reactietijd in minuten om 50 % transmissie te bereiken. (Zie definitie onder 9.5. In reactiemengsel is aanwezig 0,1 g zetmeel en 2,0 gram honing).

De fermenteerende eigenschappen worden als intact beschouwd wanneer het diastasegetal gelijk is aan 8 of hoger.

10. Kolorimetrische bepaling van hydroxymethylfurfural (HMF) volgens Winckler

Reagentia :

— Barbituurzuuroplossing : Weeg in een maatkolf van 100 ml 500 mg barbituurzuur af, die van te voren gedroogd is bij 105° C, en voeg 70 ml water toe. Plaats de kolf op een waterbad totdat het barbituurzuur is opgelost. Laat afkoelen en vul met water aan tot de maatstreep. Bewaar de oplossing in een ijskast.

— p-Toluidine-oplossing : Los 10,0 g p-toluidine p.a. in ongeveer 50 ml isopropanol op onder voorzichtige verwarming op een waterbad. Breng deze oplossing over in een maatkolf van 100 ml en voeg 10 ml ijsazijn toe. Laat afkoelen en vul met isopropanol aan tot de maatstreep. Bewaar de

1044

9.7.7. Ajouter ensuite la quantité d'eau déterminée selon 9.6.7. ; mélanger et ajouter en agitant continuellement 5,0 ml de la solution d'iode 0,0007 n.

9.7.8. Répéter l'opération sur les prélèvements prévus en 9.7.5. jusqu'à ce que l'ajoute d'iode ne donne plus qu'une coloration jaune-brun (la transmission est alors environ 60 à 70 %).

9.7.9. Après mélange laisser reposer les cylindres pendant 1 heure à l'abri de la lumière.

9.7.10. Faire un essai à blanc avec les mêmes réactifs mais en prenant 0,5 ml d'eau au lieu de la solution de miel.

9.7.11. Mesurer les extinctions comme décrit en 9.3.3. et 9.3.4. Traduire les lectures en transmission.

9.8. Calcul de l'indice diastasique (I.D.)

9.8.1. Porter sur du papier millimétré les temps de réaction en minutes par rapport aux transmissions. (Dans l'intervalle compris entre 35 et 70 % de transmission les points sont pratiquement en ligne droite).

9.8.2. Lire le temps de réaction (t) correspondant à une transmission de 50 %. Pour le déterminer avec une exactitude suffisante, il convient de faire les mesures à 3 ou 4 points entre 35 et 70 % de transmission.

9.8.3. L'indice diastasique est alors :

$$\text{I.D.} = \frac{60}{t} \cdot \frac{0,10}{0,01} \cdot \frac{1,0}{2,0} - \frac{300}{t}$$

t = temps de réaction en minutes nécessaire pour atteindre une transmission de 50 %. (Voir définition sous 9.5. Le mélange en réaction contient 0,1 g d'amidon et 2,0 g de miel).

Les propriétés fermentatives sont considérées comme intactes si l'indice diastasique est égal ou supérieur à 8.

10. Détermination de l'hydroxyméthylfurfural (HMF) par colorimétrie selon Winckler

Réactifs :

— Solution d'acide barbiturique : Peser dans un ballon jaugé de 100 ml, 500 mg d'acide barbiturique, séché au préalable à 105° C et ajouter 70 ml d'eau. Placer le ballon au bain-marie jusqu'à dissolution de l'acide barbiturique. Laisser refroidir et compléter au trait de jauge, avec de l'eau. Conserver la solution au frigo.

— Solution de p-toluidine : dissoudre 10,0 g de p-toluidine p.a. dans environ 50 ml d'isopropanol en chauffant légèrement au bain-marie. Introduire cette solution dans un ballon jaugé de 100 ml et ajouter 10 ml d'acide acétique glacial. Laisser refroidir et compléter au trait

1045

oplossing in een bruine fles in de ijskast. Vernieuw de oplossing na 3 of 4 dagen.

10.1. De volgende bewerkingen moeten binnen één uur worden uitgevoerd.

10.2. Maak een stamoplossing door 10 g volgens 1.1. voorbereide honing op te lossen in ontlucht gedestilleerd water en in een maatkolf tot 50 ml aan te vullen met hetzelfde ontluchte gedestilleerde water.

10.3. Neem twee reageerbuisen en breng in ieder met behulp van een pipet 2.0 ml van de honingoplossing, voeg hieraan vervolgens 5,0 ml p-toluïdine-oplossing toe. Voeg aan reageerbuis nr 1 met behulp van een pipet 1,0 ml water toe en schud. Voeg aan reageerbuis nr 2 met behulp van een pipet 1,0 ml van de barbituurzuuroplossing toe, schud en druk gelijktijdig een chronometer in.

10.4. Breng de oplossingen in 1 cm cuvetten snel in de spectrofotometer. Lees, bij een golflengte van 550 nm, de extincties van oplossing 2 ten opzichte van oplossing 1 van minuut tot minuut gedurende 4 tot 5 minuten af gerekend vanaf de toevoeging van de barbituurzuuroplossing.

10.5. De curve van de extincties als functie van de tijd moet tussen 2 en 4 minuten een maximum hebben. Laat A deze maximale extinctie zijn.

10.6. Het gehalte aan HMF in mg/100 g wordt berekend volgens:
 $A \times 19,2$

Aangenomen wordt, dat als het resultaat de 4 mg/100 g niet passeert, het HMF afwezig is.

11. Vuilproef (Filtth-test)

Reagentia :

— Salpeterzuur s.g. 1,37

11.1. Los 200 g van de volgens 1.2 voorbereide honing op in 200 ml heet, met 5 ml HNO_3 aangezuurd water.

11.2. Filtreer direct daarna door een 7 cm snel lopend papierfilter in een afzuigtrechter.

Was met zo min mogelijk heet water na en onderzoek het filter microscopisch.

12. Kleurstoffen

Het onderzoek wordt verricht conform Aanbeveling M (65) 4 van het Comité van Ministers van de Benelux Economische Unie inzake de toepassing van een Benelux-Referentiemethode voor het opsporen en het identificeren van in levensmiddelen aanwezige, in water oplosbare, synthetische kleurstoffen.

1045

de jauge avec de l'isopropanol. La solution se conserve en flacon brun, au frigo. A renouveler après 3 ou 4 jours.

10.1 L'ensemble des opérations suivantes doit s'effectuer en une heure au maximum.

10.2. Préparer une solution mère en dissolvant dans de l'eau distillée désaérée 10 g de miel préparé selon 1.1 et en complétant à 50 ml dans un ballon jaugé avec la même eau distillée désaérée.

10.3. Prendre deux éprouvettes et introduire dans chacune d'elles au moyen d'une pipette 2,0 ml de la solution de miel, puis y ajouter 5,0 ml de solution de p-toluidine. Ajouter avec une pipette 1,0 ml d'eau dans l'éprouvette n° 1 et agiter. Ajouter avec une pipette 1,0 ml de solution d'acide barbiturique dans l'éprouvette n° 2, agiter et déclencher simultanément un chronomètre compte secondes.

10.4 Introduire rapidement les solutions en cuvettes de 1 cm dans le spectrophotomètre réglé à la longueur d'onde de 550 nm. Lire les extinctions de la solution 2 par rapport à la solution 1 de minute en minute pendant 4 à 5 minutes à partir de l'adjonction de la solution barbiturique.

10.5 La courbe des extinctions en fonction du temps doit présenter un maximum entre 2 et 4 minutes. Soit A cette extinction maximum.

10.6. La teneur en HMF mg/100 g s'obtient par le calcul suivant :

$$A \times 19,2$$

Le HMF est considéré comme étant absent si le résultat ne dépasse pas 4 mg/100 g.

11. Filth-test

Réactif :

— Acide nitrique p.s. 1,37.

11.1. Dissoudre 200 g du miel préparé selon 1.2., dans 200 ml d'eau chaude acidifiée par 5 ml de HNO_3 .

11.2 Filtrer ensuite directement, par aspiration, sur papier filtre de 7 cm à filtration rapide.

Rincer par la plus petite quantité possible d'eau chaude et examiner le filtre au microscope.

12. Colorants

L'examen est effectué conformément à la Recommandation M (65) 4 du Comité de Ministres de l'Union économique Benelux relative à l'application d'une méthode de référence Benelux pour la recherche et l'identification des colorants synthétiques, solubles dans l'eau, présents dans les denrées alimentaires.

13. Pollen

Microscopisch onderzoek.

14. Microbiologisch onderzoek

14.1. Schimmels

Onderzoek de oppervlakte van de honing macroscopisch op de afwezigheid van schimmels

1046

13. Pollen

Faire un examen microscopique.

14. Examen microbiologique

14.1. Moisissures

A l'examen macroscopique, la surface du miel ne peut pas révéler la présence de moisissures.

1047

AANBEVELING
VAN HET COMITE VAN MINISTERS
VAN 11 DECEMBER 1968
INZAKE
DE TOEPASSING VAN BENELUX-REFERENTIE-
METHODEN VAN ONDERZOEK, BEHORENDE
BIJ DE AANBEVELING M (65) 6
INZAKE DE HARMONISATIE DER
WETGEVINGEN
BETREFFENDE GEEVAPOREERDE EN
GÉCONDENSEERDE MELK

M (68) 50

RECOMMANDATION
DU COMITE DE MINISTRES
DU 11 DECEMBRE 1968
CONCERNANT L'APPLICATION DE METHODES
D'ANALYSE DE REFERENCE BENELUX
SE RAPPORTANT
A LA RECOMMANDATION M (65) 6, RELATIVE A
L'HARMONISATION DES LEGISLATIONS
EN MATIERE DE LAIT CONCENTRE
SUCRE OU NON

M (68) 50

1048

AANBEVELING

van het Comité van Ministers van de Benelux Economische Unie
inzake de toepassing van Benelux-referentiemethoden van
onderzoek, behorende bij de aanbeveling M (65) 6 inzake de
harmonisatie der wetgevingen betreffende
geëvaporeerde en gecondenseerde melk

M (68) 50

Het Comité van Ministers van de Benelux Economische Unie,

Gelet op de artikelen 3, 6 en 7 van het Unieverdrag,

Gelet op artikel 9 van de Overgangsovereenkomst,

Gelet op de Aanbeveling van het Comité van Ministers van
25 oktober 1965 inzake de harmonisatie der wetgevingen betref-
fende geëvaporeerde en gecondenseerde melk, M (65) 6,

Overwegende, dat geschillen, voortvloeiende uit het toepassen
van verschillende analysemethoden of uit het gebruik van
verschillende normen, dienen te worden vermeden,

Overwegende, dat het in het bijzonder voor de harmonisatie
van het voedingsmiddelentoezicht vereist is, dat gelijke of
gelijkwaardige methoden worden toegepast, dezelfde termen
worden gebezigd en gelijke of gelijkwaardige normen worden
aangelegd,

Beveelt aan :

Enig artikel

De Regeringen der drie Beneluxlanden worden uitgenodigd
bijgaande analysemethoden betreffende geëvaporeerde en gecon-
denseerde melk vóór 1 juli 1969 in hun wetgeving op te nemen
als enig geldige referentiemethoden.

Gedaan te Brussel, op 11 december 1968.

De Voorzitter van het Comité van Ministers,

P. GREGOIRE

1048

RECOMMANDATION

**du Comité de Ministres de l'Union Economique Benelux
concernant l'application de méthodes d'analyse de référence
Benelux se rapportant à la recommandation M (65) 6, relative
à l'harmonisation des législations en matière
de lait concentré sucré ou non**

M (68) 50

Le Comité de Ministres de l'Union économique Benelux,

Vu les articles 3, 6 et 7 du Traité d'Union,

Vu l'article 9 de la Convention transitoire,

Vu la Recommandation du Comité de Ministres du 25 octobre 1965, relative à l'harmonisation des législations en matière de lait concentré sucré ou non, M (65) 6,

Considérant qu'il y a lieu d'éviter des contestations nées de l'application de techniques d'analyse différentes ou de l'emploi de normes différentes,

Considérant qu'en particulier l'harmonisation du contrôle des denrées alimentaires exige la mise en œuvre de techniques identiques ou équivalentes et l'emploi de modes d'expression semblables et le recours à des normes identiques ou équivalentes,

Recommande :

Article unique

Les Gouvernements des trois pays du Benelux sont invités à introduire, avant le 1^{er} juillet 1969 dans leurs législations comme seules méthodes de références valables, les méthodes d'analyse ci-annexées relatives au lait concentré sucré ou non.

Fait à Bruxelles, le 11 décembre 1968.

Le Président du Comité de Ministres,

P. GREGOIRE

1049

**Methoden van onderzoek
behorende bij het reglement M (65) 6 inzake
geëvaporeerde en gecondenseerde melk**

M (68) 50, Bijlage

1. Voorbereiding van de monsters

1.1. Geëvaporeerde melk.

Schud de bus krachtig en open deze aan de wand van het deksel; schenk de inhoud langzaam over in een bekersglas. Meng de componenten door herhaald heen en weer schenken. Melk of vet, dat aan de verpakking blijft vastzitten, moet in het monster worden opgenomen. Verwarm nu het afgedekte monster in het bekersglas tot een temperatuur van 40° C en meng al roerend grondig. Laat afkoelen.

1.2. Gecondenseerde melk met suiker.

Schud de bus krachtig en open deze aan de wand van het deksel; meng grondig. Melk of vet, dat aan het deksel blijft vastzitten, moet in het monster worden opgenomen. Verwarm tot een temperatuur van 40° C, onder afschrappen van de wand, terwijl met een lepel van onder naar boven goed wordt geroerd. Laat afkoelen.

Voor verpakkingen in tubes: open deze en breng de inhoud over in een bekersglas. Knip de tube open en schraapt wat aan het materiaal is blijven kleven af. Breng ook dit in het bekersglas en homogeneiseer.

2. Droge stof

Reagens:

Zand: met zoutzuur gewassen en gedroogd zand.

2.1. Breng ongeveer 25 gram zand en een glazen staafje in een weegdoosje, gemaakt van een niet-oxydeerbaar metaal met een diameter van 7,5 cm en een hoogte van 2,5 cm, voorzien van een platte bodem en goed sluitend deksel.

2.2. Droog het schaalpje met de inhoud en open deksel gedurende twee uur bij 98 - 100° C. Laat met gesloten deksel in een exsiccator tot kamertemperatuur afkoelen en weeg.

2.3. Schuif het zand naar één zijde van het schaalpje. Weeg tot op 0,1 mg nauwkeurig snel ongeveer 3 g resp. 1,5 g van de volgens 1.1. resp. 1.2. voorbereide waar af in de open ruimte. Voeg toe 3 ml resp. 5 ml gedestilleerd water bij de afgewogen waar en meng. Meng vervolgens het geheel met behulp van het glazen staafje. Plaats het schaalpje gedurende 20 minuten onder nu en dan roeren op een waterbad.

1049

Méthodes d'analyse
afférentes au règlement M (65) 6 concernant
le lait concentré sucré ou non

M (68) 50, Annexe

1. Préparation des échantillons

1.1. Lait concentré

Après l'avoir vivement agité, ouvrir l'emballage au bord du couvercle et verser lentement son contenu dans un béccher. Mélanger le contenu en le transvasant à plusieurs reprises. Amener dans le béccher le lait ou la graisse qui adhère à l'emballage. Chauffer l'échantillon, dans le béccher couvert, jusqu'à 40° C et mélanger intimement en remuant. Laisser refroidir.

1.2. Lait concentré sucré

Après l'avoir vivement agité, ouvrir l'emballage au bord du couvercle ; mélanger intimement son contenu. Amener dans l'échantillon le lait ou la graisse adhérant au couvercle. Chauffer jusqu'à 40° C tout en raclant la paroi et en remuant de bas en haut avec une cuillère. Laisser refroidir.

Pour les emballages en tube : les ouvrir et transférer leur contenu dans un béccher. Fendre le tube et racler la matière qui y adhère. La transférer également dans le béccher et homogénéiser.

2. Matière sèche

Réactif :

Sable : sable lavé à l'acide chlorhydrique et séché.

2.1. Placer environ 25 g de sable et une baguette de verre dans un pèse-filtre en métal inoxydable, d'un diamètre de 7,5 cm et d'une hauteur de 2,5 cm à fond plat, doté d'un couvercle fermant hermétiquement.

2.2. Sécher le pèse-filtre, son contenu et le couvercle non fixé pendant 2 heures à 98 - 100° C. Fixer le couvercle, laisser refroidir dans un exsiccateur jusqu'à température ambiante et peser.

2.3. Faire glisser le sable sur un côté du pèse-filtre et, dans la partie dégagée, peser exactement environ 3 g de la denrée préparée selon 1.1. ou 1,5 g de la denrée préparée selon 1.2. Ajouter à la denrée 3 ml d'eau distillée dans le premier cas ou 5 ml d'eau distillée dans le 2ème cas et mélanger. A l'aide de la baguette de verre, mélanger d'abord puis incorporer le sable. Placer le pèse-filtre au bain-marie pendant 20 minutes en remuant de temps à autre.

1050

2.4. Droog het schaalpje met open deksel gedurende 1 ½ uur bij 98 - 100° C. Laat met gesloten deksel in een exsiccator tot kamertemperatuur afkoelen en weeg.

2.5. Droog nogmaals gedurende 1 uur, koel af en weeg. Herhaal dit zolang totdat het verschil in twee opeenvolgende wegingen niet meer dan 0,5 mg is.

2.6. Het gehalte aan droge stof in % =

$$\frac{100 \times \text{gewicht na drogen}}{\text{gewicht voor drogen}}$$

3. Vet

Reagentia :

- Ammonia, 25 gew. %
- Ethanol, 96 vol. %
- Diëthylether, peroxide vrij
- Petroleumether, kookpunt 40 - 60° C

Apparatuur :

Extractiebuisen volgens Mojonnier : zie tekening blz. 1063.

3.1. Breng tot op 1 mg nauwkeurig afgewogen, 4 - 5 g van de volgens 1. voorbereide waar in de extractiebuis. Voeg 7,0 ml water toe en wervel, terwijl in een waterbad tot 40 - 50° C verwarmd wordt, rond totdat de waar volledig gedispergeerd is.

3.2. Voeg 1,5 ml ammonia toe en schud goed.

3.3. Voeg 10 ml ethanol toe en schud rustig, maar grondig, om.

3.4. Voeg 25 ml diëthylether toe, sluit de buis en schud krachtig gedurende 1 minuut. Koel, indien nodig, in stromend water.

3.5. Verwijder de stop voorzichtig, voeg 25 ml petroleumether toe en gebruik de eerste milliliters om de stop en de hals van de extractiebuis af te spoelen. Sluit de extractiebuis en schud gedurende 30 seconden, niet te krachtig om.

3.6. Laat de extractiebuis met de stop naar boven staan totdat de bovenlaag helder is geworden en goed gescheiden van de waterlaag. De scheiding kan ook verkregen worden door centrifugeren in een daarvoor geschikte centrifuge (vonkvrij).

3.7. Verwijder de stop en spoel deze en de hals van de extractiebuis af met een mengsel van gelijke delen diëthylether en petroleumether af. Giet voorzichtig zoveel mogelijk van de bovenstaande vloeistof in een gedroogd en gewogen kolfje van 250 ml met platte bodems, waarin zich enige kooksteentjes bevinden.

1050

2.4. Sécher le pèse-filtre sans le couvercle pendant 1 1/2 heure à 98 - 100° C. Fixer le couvercle, laisser refroidir dans un exsiccateur jusqu'à température ambiante et peser.

2.5. Sécher une nouvelle fois pendant une heure, refroidir et peser. Répéter cette opération jusqu'à ce que la différence entre deux pesées successives n'excède plus 0,5 mg.

2.6. La teneur en matière sèche en % =

$$\frac{100 \times \text{le poids après séchage}}{\text{le poids avant séchage}}$$

3. Graisse

Réactifs :

- Ammoniaque, 25 % poids
- Ethanol, 96 % volume
- Ether diéthylique, exempt de peroxyde
- Ether de pétrole, P.E. 40 - 60° C

Appareillage :

Tubes à extraction suivant Mojonnier : voir figure page 1063.

3.1. Dans le tube d'extraction, déposer 4 à 5 g, pesés à 1 mg près, de la denrée préparée selon 1. Ajouter 7,0 ml d'eau et, tout en portant la température à 40 - 50° C au bain-marie, agiter jusqu'à ce que la denrée soit complètement dispersée.

3.2. Ajouter 1,5 ml d'ammoniaque et agiter énergiquement.

3.3. Ajouter 10 ml d'éthanol et agiter lentement mais complètement.

3.4. Ajouter 25 ml d'éther diéthylique, fermer le tube et agiter énergiquement pendant une minute. Refroidir au besoin sous l'eau courante.

3.5. Enlever prudemment le bouchon, ajouter 25 ml d'éther de pétrole et utiliser les premiers millilitres pour rincer le bouchon et le col du tube à extraction. Fermer le tube à extraction et agiter, pas trop énergiquement, pendant 30 secondes.

3.6. Laisser reposer le tube à extraction bouché en position verticale jusqu'à ce que la couche supérieure soit limpide et bien séparée de la phase aqueuse. La séparation peut également s'obtenir par centrifugation dans une centrifugeuse appropriée (non explosive).

3.7. Retirer le bouchon et laver celui-ci ainsi que le col du tube à extraction à l'aide d'un mélange à parts égales d'éther diéthylique et d'éther de pétrole.

Transférer prudemment le plus possible du liquide surnageant dans un ballon séché et taré de 250 ml à fond plat, contenant quelques grains de pierre ponce.

1051

3.8. Spoel de buitenkant en de binnenkant van de hals van de extractiebuis met een mengsel van gelijke delen diëthylether en petroleumether af. Vang de spoelvloeistof van de buitenkant op in het kolfje van 250 ml.

3.9. Herhaal de bewerkingen van 3.4. tot en met 3.8 tweemaal. Gebruik echter slechts 15 ml diëthylether en 15 ml petroleumether en voeg bij de eerste herhaling bovendien 5 ml ethanol toe

3.10 Damp voorzichtig het oplosmiddel in het kolfje zo goed mogelijk af.

3.11. Droog het kolfje met het residu gedurende 1 uur bij $102 \pm 2^\circ \text{C}$, waarbij het kolfje op zijn kant in de stoof moet liggen. Laat tot kamertemperatuur afkoelen en weeg tot op 0,1 mg nauwkeurig.

3.12. Herhaal deze bewerking, waarbij telkens 30 minuten wordt gedroogd, totdat het gewicht van het kolfje niet meer afneemt.

3.13. Het gewicht van het residu, berekend op 100 g van de waar, is het vetgehalte.

4. Melkzuur (alleen toepasbaar op ongesuikerde produkten)

Reagentia :

— Kopersulfaat-oplossing I : los 5 g kopersulfaat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) op in gedestilleerd water en verdun tot 100 ml.

— Kopersulfaat-oplossing II : los 250 g kopersulfaat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) op in gedestilleerd water en verdun tot 1.000 ml.

— Calciumhydroxide-suspensie : wrijf 300 g calciumhydroxide ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) aan met 900 ml gedestilleerd water. Bewaar de verkregen suspensie in een goed gesloten fles.

— Zwavelzuur, 95,5 - 97 %.

— Zwavelzuur-kopersulfaat-oplossing : voeg 0,5 ml kopersulfaat-oplossing I toe aan 60 ml zwavelzuur en meng.

— p-hydroxydifenyl-reagens : los 1,5 g p-hydroxydifenyl op in 10 ml 5 % NaOH-oplossing door verwarmen en roeren. Vul aan tot 100 ml met gedestilleerd water. Bewaar deze oplossing in een fles van bruin glas in het donker. Het reagens is niet langer dan 4 weken houdbaar.

— Standaard-melkzuur-oplossing : los onmiddellijk voor het gebruik 0,1067 g lithiumlactaat op in gedestilleerd water en verdun tot 1.000 ml. Deze oplossing bevat 0,1 mg melkzuur per ml.

870

4.1. Weeg ——— g van het monster af tot op 0,1 g nauwkeurig,
a — 8,7

(waarbij a = het gehalte aan vetvrije droge stof in het monster).
Los deze hoeveelheid op in 100 ml water.

1051

3.8. Laver les parois intérieures et extérieures du col du tube à extraction à l'aide d'un mélange à parts égales d'éther diéthylique et d'éther de pétrole. Recueillir le liquide de lavage de la paroi extérieure dans le ballon de 250 ml.

3.9. Répéter deux fois les opérations de 3.4 à 3.8, mais en n'utilisant que 15 ml d'éther diéthylique et 15 ml d'éther de pétrole en y ajoutant, pour la première de ces réextractions, 5 ml d'éthanol.

3.10. Evaporer prudemment, le mieux possible, le solvant du ballon.

3.11. Sécher le ballon et le résidu pendant 1 heure à $102 \pm 2^\circ \text{C}$, le ballon étant couché sur le côté dans l'étuve. Laisser refroidir jusqu'à température ambiante et peser à 0,1 mg près.

3.12. Répéter cette opération en séchant chaque fois pendant 30 minutes jusqu'à poids constant du ballon.

3.13. Le poids du résidu exprimé sur 100 g de la denrée est la teneur en graisse.

4. Acide lactique (applicable uniquement aux laits non sucrés)

Réactifs :

— Solution de sulfate de cuivre I : dissoudre 5 g de sulfate de cuivre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) dans de l'eau distillée et diluer jusqu'à 100 ml.

— Solution de sulfate de cuivre II : dissoudre 250 mg de sulfate de cuivre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) dans de l'eau distillée et diluer jusqu'à 1.000 ml.

— Suspension d'hydroxyde calcique : triturer 300 g d'hydroxyde calcique ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) en présence de 900 ml d'eau distillée. Conserver la suspension obtenue dans un flacon bien bouché.

— Acide sulfurique, 95,5 - 97 %.

— Solution acide sulfurique-sulfate de cuivre : ajouter 0,5 ml de sol. I de sulfate de cuivre à 60 ml d'acide sulfurique et mélanger.

— Réactif au p-hydroxydiphényle : dissoudre en chauffant et en agitant 1,5 g de p-hydroxydiphényle dans 10 ml d'une solution de NaOH 5 %. Conserver cette solution en flacon en verre brun et à l'abri de la lumière. Le réactif ne se conserve pas plus de 4 semaines.

— Solution étalon d'acide lactique : dissoudre immédiatement avant l'emploi 0,1067 g de lactate de lithium dans de l'eau distillée et diluer jusqu'à 1.000 ml. Cette solution contient 0,1 mg d'acide lactique par ml.

870

4.1. Peser à 0,1 g près $\frac{\text{---}}{\text{---}}$ g de l'échantillon
a — 8,7

(a représentant la teneur en matière sèche dégraissée de l'échantillon). Dissoudre cette quantité dans 100 ml d'eau.

4.2. Pipetteer van de aldus verkregen oplossing 5 ml in een maatkolf van 50 ml en verdun met gedestilleerd water tot ongeveer 35 ml. Breng ten behoeve van een blanco bepaling in een tweede maatkolf van 50 ml ongeveer 35 ml water. Behandel beide kolven als omschreven in 4.3.

4.3. Voeg 0,5 ml kopersulfaat-oplossing I toe, meng en verwarm de inhoud van de kolven in een waterbad van ongeveer 90° C tot $46 \pm 1^\circ$ C. Meng tijdens het opwarmen.

Voeg onder voortdurend schudden 5 ml kopersulfaat-oplossing II toe, plaats de kolven in een waterbad van $46 \pm 1^\circ$ C en laat ze hierin gedurende 10 minuten staan.

Voeg vervolgens op dezelfde wijze 5 ml calciumhydroxide-suspensie toe, plaats de kolven wederom in het waterbad van $46 \pm 1^\circ$ C en laat ze hierin nog eens 10 minuten staan.

Koel af tot kamertemperatuur, vul aan met gedestilleerd water tot 50 ml, schud krachtig tot de inhoud van de kolven homogeen is en filtreer.

4.4. Pipetteer in een glazen buis 1 ml van het onder 4.3. verkregen filtraat en in een andere gelijke buis 1 ml van het filtraat verkregen door behandeling van het gedestilleerd water met de klaringsvloei-stoffen.

Behandel beide buizen als volgt: voeg 6,0 ml zwavelzuur-kopersulfaat-oplossing toe en meng. Verwarm de buizen, los afgedekt met rubberstoppen, gedurende 5 minuten in een kokend waterbad en koel af tot kamertemperatuur. Voeg 2 druppels p-hydroxidifenylnyl-reagens toe en schud krachtig teneinde het reagens zeer fijn verdeeld in de vloeistof te brengen.

Plaats de buizen in een waterbad van $30 \pm 2^\circ$ C, laat ze gedurende 15 minuten er in staan en schud van tijd tot tijd.

Verhit de inhoud van de buizen, waarbij deze wederom los worden afgedekt met rubberstoppen, gedurende 90 sec. in een kokend waterbad en koel vervolgens snel af tot 20° C in koud water. Meet het verschil in extinctie tussen beide vloeistoffen bij een golflengte van 570 nm.

Bepaal met behulp van de ijklijn, verkregen als beschreven onder 4.5. het percentage melkzuur in de gereconstitueerde melk verkregen op de in 4.1. beschreven wijze.

Herhaal het onderzoek, indien het percentage melkzuur in de gereconstitueerde melk groter dan 0,010 % blijkt te zijn, met een passende verdunning van het filtraat, verkregen onder 4.3.

4.5. Bepaal de ijklijn als volgt:

pipetteer in een viertal maatkolven van 50 ml telkens 5 ml gereconstitueerde melk bereid uit melkpoeder op de wijze als aangegeven onder 4.1. Dit melkpoeder dient deugdelijk te zijn en bereid uit melk die geen verzuringmelkzuur bevat.

1052

4.2. Pipeter 5 ml de la solution ainsi obtenue dans un ballon jaugé de 50 ml et diluer avec de l'eau distillée jusqu'à env. 35 ml. Pour le blanc introduire env. 35 ml d'eau dans un deuxième ballon jaugé de 50 ml. Traiter les deux ballons comme indiqué en 4.3.

4.3. Ajouter 0,5 ml de la solution sulfate de cuivre I, mélanger et chauffer à $46 \pm 1^\circ \text{C}$ le contenu des ballons plongés dans un bain-marie à env. 90°C . Mélanger en chauffant.

Ajouter sous agitation continue 5 ml de solution de sulfate de cuivre II, plonger les ballons dans un bain-marie à $46 \pm 1^\circ \text{C}$ et les y maintenir pendant 10 minutes.

Ensuite ajouter de la même façon 5 ml de suspension d'hydroxyde calcique, plonger les ballons à nouveau dans le bain-marie à $46 \pm 1^\circ \text{C}$ et les y maintenir encore une fois pendant 10 minutes.

Refroidir à température ordinaire, ajuster avec de l'eau distillée jusqu'à 50 ml, agiter énergiquement jusqu'à ce que le contenu des ballons soit homogène, filtrer.

4.4. Pipeter dans un tube en verre 1 ml du filtrat obtenu sous 4.3. et dans un tube identique 1 ml du filtrat obtenu lors du traitement de l'eau distillée avec les liquides défécants.

Traiter les deux tubes comme suit : ajouter 6,0 ml de solution d'acide sulfurique-sulfate de cuivre et mélanger. Chauffer pendant 5 minutes dans un bain-marie bouillant les tubes fermés d'une manière lâche au moyen d'un bouchon en caoutchouc et refroidir jusqu'à température ordinaire. Ajouter 2 gouttes de réactif au p-hydroxydiphényle et agiter énergiquement afin de bien répartir le réactif dans le liquide.

Mettre les tubes au bain-marie à $30 \pm 2^\circ \text{C}$, les y maintenir pendant 15 minutes et agiter de temps en temps.

Réchauffer le contenu des tubes légèrement fermés au moyen d'un bouchon en caoutchouc, pendant 90 sec. dans un bain-marie bouillant et refroidir rapidement jusqu'à 20°C dans l'eau froide. Mesurer la différence d'extinction des deux liquides à la longueur d'onde de 570 nm. Déterminer le pourcentage d'acide lactique dans le lait reconstitué obtenu selon le procédé décrit sous 4.1. au moyen de la droite d'étalonnage obtenue comme décrite sous 4.5.

Si le pourcentage en acide lactique dans le lait reconstitué est supérieur à 0,010 % répéter l'essai avec une dilution adéquate du filtrat, obtenu sous 4.3.

4.5. Etablir la droite d'étalonnage comme suit :

dans 4 ballons jaugés de 50 ml introduire respectivement 5 ml de lait reconstitué à partir d'une poudre de lait comme décrit sous 4.1. Cette poudre de lait doit être de bonne qualité et préparée à partir d'un lait ne contenant pas d'acide lactique d'acidification.

1053

Breng in deze kolven resp. 0, 1, 2 en 4 ml van de standaard-melkzuuroplossing en vul aan met gedestilleerd water tot ongeveer 35 ml. Handel verder als beschreven onder 4.3. en 4.4. en meet het verschil in extinctie met de blanco bepaling als bedoeld in 4.2.

Zet de verschillen in extinctie, die de reeksleden vertonen ten opzichte van de blanco, af als functie van het percentage toegevoegd melkzuur. Trek door de punten een lijn en verplaats deze evenwijdig aan zichzelf naar de oorsprong. De ijklijn behoort een rechte te zijn.

4.6. Melkzuur wordt geacht slechts in sporen aanwezig te zijn indien het gehalte verkregen volgens 4.4. niet meer dan 0,02 % bedraagt.

5. Fosfatase

Reagentia :

— Natriumhydroxide-oplossing 0,5 n.

— Fosfatase-reagens A.

Los 0,11 g dinatriumfenylfosfaat op in 80 à 90 ml water, voeg hierbij 3 ml 0.25 molair natriumcarbonaat-oplossing (2,65 g watervrij natriumcarbonaat per 100 ml) en vul aan tot 100 ml.

Bereid deze oplossing voor elk onderzoek vers.

— Fosfatase-reagens B.

Los 23 mg 2,6-dibroomchinonchlorimide op in 5 ml ethanol 96 vol. %. Bewaar de oplossing koel en in het donker en niet langer dan 4 weken.

5.1. Maak van het melkpoeder met water, zonder verwarming een zodanige oplossing dat de concentratie aan vetvrije droge melkbestanddelen ongeveer overeenkomt met die van ondermelk. Neutraliseer, zo nodig, met een natriumhydroxide-oplossing 0,5 n ten opzichte van lakmoespapier.

5.2. Pipetteer in twee reageerbuizen elk 0,5 ml van de te onderzoeken waar zonder de wanden te bevochtigen. Plaats een der beide buizen gedurende 5 min. in een waterbad van 85° C en koel daarna af tot kamertemperatuur.

5.3. Voeg aan beide reageerbuizen met een meetpipet 5 ml fosfatase-reagens A toe; sluit de buizen met een rubberstop en bewaar deze bij een temperatuur tussen 30 en 35° C.

5.4. Voeg na 1 h 6 druppels van fosfatasereagens B toe en meng. Vergelijk na 5 min. de kleuren der beide buizen.

5.5. Indien de inhoud van de buis met de verhitte melk zwakker blauw is dan de inhoud van de andere buis, wordt fosfatase in het onderzochte monster geacht aanwezig te zijn.

1053

Introduire dans ces ballons respectivement 0, 1, 2 et 4 ml de la solution standard d'acide lactique et compléter avec de l'eau distillée jusqu'à env. 35 ml. Continuer comme décrit sous 4.3. et 4.4. et mesurer la différence d'extinction avec le blanc comme indiqué en 4.2. Porter sur un diagramme les différences d'extinction présentées par les éléments de la gamme d'étalonnage en fonction du pourcentage d'acide lactique additionné. Joindre les points qui doivent se placer sur une droite. Déplacer la droite parallèlement à elle-même de façon à la faire passer par l'origine.

4.6. L'acide lactique est considéré n'être présent qu'en traces si la teneur obtenue selon 4.4. n'atteint pas plus que 0,02 %.

5. Phosphatase

Réactifs :

— solution d'hydroxyde sodique 0,5 n.

— Réactif phosphatase A.

Dissoudre 0,11 g de phénylphosphate disodique dans 80 à 90 ml d'eau, ajouter 3 ml de solution de carbonate sodique 0,25 molaire (2,65 g carbonate sodique anhydre par 100 ml) et compléter à 100 ml. Préparer une solution fraîche lors de chaque examen.

— Réactif phosphatase B.

Dissoudre 23 mg de 2,6-dibromoquinone chlorimide dans 5 ml d'éthanol 96 %. Conserver la solution au frais et à l'obscurité pendant 4 semaines au maximum.

5.1. Au moyen de la poudre de lait préparer avec de l'eau sans chauffer, une solution telle que la concentration en matières sèches dégraissées corresponde environ à celle du lait écrémé.

Si nécessaire neutraliser au papier de tournesol au moyen d'une solution d'hydroxyde sodique 0,5 n.

5.2. Pipeter dans chacun des 2 tubes à essais 0,5 ml de la denrée à examiner sans mouiller les parois. Placer un des tubes au bain-marie à 85° C pendant 5 min. et refroidir ensuite jusqu'à température ordinaire.

5.3. Ajouter aux 2 tubes à essais avec une pipette jaugée 5 ml de réactif phosphatase A ; boucher les tubes avec un bouchon en caoutchouc et les conserver à une température comprise entre 30 et 35° C.

5.4. Après 1 h ajouter 6 gouttes de réactif phosphatase B et mélanger. Comparer après 5 minutes la coloration des deux tubes.

5.5. Si la teinte bleue du tube contenant le lait chauffé est inférieure à celle de l'autre tube, l'échantillon est considéré comme contenant des phosphatases.

1054

5.6. Verhoogde gevoeligheid van de reactie. Voeg in twijfelgevallen aan beide buizen 2 ml normaal butanol toe. Keer de buizen daarop achtmaal voorzichtig om, telkens wachtend totdat de vloeïstoflagen zich gescheiden hebben. Eventueel gevormde blauwe of blauwgroene kleurstof lost in de heldere bovenlaag op, waardoor de kleurvergelijking aanzienlijk wordt verscherpt.

5.7. Opmerking :

Grote reinheid van buizen, pipetten, stoppen enz. is een eerste eis, daar geringe verontreinigingen bv. met fenolen en daarmee verwante stoffen een positieve reactie kunnen veroorzaken. Voorts bedenke men dat speeksel fosfatase bevat.

6. Stabilisatoren

Deze methode zal worden behandeld in een aanvulling bij deze aanbeveling.

7. Saccharose

Reagentia :

— Zinkacetaat-oplossing : los 21,9 g Zn ($C_2H_3O_2$)₂·2H₂O en 3 ml ijsazijn op in gedestilleerd water en verdun tot 100 ml.

— Kaliumhexacyanoferraat (II)-oplossing : los 10,6 g K₄Fe(CN)₆·3H₂O in gedestilleerd water op en verdun tot 100 ml.

— Zoutzuur 6,35 ± 0,20 n (20 — 22 %).

— Azijnzuur 2,0 ± 0,2 n (12 %).

— Ammonia 2,0 ± 0,2 n (3,5 %).

Instrumenten

Polarimeter met natriumdampamp.

Polarimeterbuizen met een lengte van exact 2 dm.

7.1. Weeg 40 g van de volgens 1. voorbereide waar op 10 mg nauwkeurig af in een bekeerglas van 100 ml. Voeg 50 ml warm gedestilleerd water toe (80 - 90° C) en meng goed. Breng de inhoud van het bekeerglas kwantitatief over in een maatkolf van 200 ml. Spoel het bekeerglas na met in totaal 100 ml gedestilleerd water van 60° C en breng ook deze wasvloeïstof over in de maatkolf. Koel af tot kamertemperatuur.

7.2. Voeg 5 ml van de verdunde ammonia toe. Wervel goed rond en laat de maatkolf gedurende 15 minuten staan.

7.3. Neutraliseer de ammonia door een equivalente hoeveelheid van het verdunde azijnzuur toe te voegen. (Bepaal vooraf het juiste aantal ml door de ammonia te titreren met broomthymolblauw als indicator). Meng door omwervelen.

1054

5.6. Technique améliorée de la réaction. En cas de doute ajouter aux deux tubes 2 ml de butanol normal. Ensuite retourner prudemment les tubes 8 fois, en attendant chaque fois que les couches se soient séparées. Le colorant bleu ou bleu-vert éventuellement formé se dissout dans la couche limpide supérieure ; la comparaison des colorations est ainsi notablement améliorée.

5.7. Remarque :

Il y a lieu d'exiger une grande propreté des tubes, pipettes, bouchons, etc., car la moindre souillure par des phénols ou des substances apparentées peut donner une réaction positive. Ensuite il y a lieu de tenir compte du fait que la salive contient des phosphatases.

6. Stabilisateurs

Cette méthode fera l'objet d'un complément à la présente Recommandation.

7. Saccharose

Réactifs :

— Solution d'acétate de zinc : dissoudre 21,9 g de Zn ($C_2H_3O_2$)₂.2H₂O et 3 ml d'acide acétique glacial dans de l'eau distillée et diluer jusqu'à 100 ml.

— Solution d'hexacyanoferrate (II) de potassium : dissoudre 10,6 g de $K_4Fe(CN)_6 \cdot 3H_2O$ dans de l'eau distillée et diluer jusqu'à 100 ml.

— Acide chlorhydrique 6,35 ± 0,20 n (20 — 22 %).

— Acide acétique 2,0 ± 0,2 n (12 %).

— Ammoniaque 2,0 ± 0,2 n (3,5 %).

Instruments :

Polarimètre à lampe à vapeur de sodium

Tubes pour polarimètre d'une longueur de 2 dm exactement.

7.1. Dans un bécher de 100 ml, peser à 10 mg près 40 g de la denrée préparée selon 1. Ajouter 50 ml d'eau distillée chaude (80 - 90° C) et mélanger intimement. Transférer quantitativement le contenu du bécher dans un ballon jaugé de 200 ml. Laver le bécher par 100 ml au total d'eau distillée à 60° C et transférer également ce liquide de lavage dans le ballon jaugé. Refroidir à la température ambiante.

7.2. Ajouter 5 ml d'ammoniaque dilué. Bien agiter et laisser reposer le ballon jaugé pendant 15 minutes.

7.3. Neutraliser l'ammoniaque en ajoutant une quantité équivalente d'acide acétique dilué (déterminer préalablement le nombre exact de millilitres en titrant l'ammoniaque en présence de bleu de bromothymol comme indicateur). Mélanger par agitation.

1055

7.4. Voeg, onder mengen door ronddraaien van de maatkolf, 12,5 ml zinkacetaat-oplossing toe.

7.5. Voeg, onder mengen door ronddraaien van de maatkolf, 12,5 ml kaliumhexacyanoferraat (II)-oplossing toe.

7.6. Breng de inhoud van de maatkolf op 20° C en vul met gedestilleerd water van 20° C aan tot de maatstreep. Sluit de maatkolf met een droge stop en meng de inhoud door krachtig schudden.

7.7. Laat enige minuten staan. Filtreer vervolgens door een droog vouwfilter, waarbij de eerste 25 ml van het filtraat verworpen worden.

7.8. Bepaal de optische draaiing van het filtraat bij $20^\circ \pm 2^\circ \text{C}$.

7.9. Pipetteer 40 ml van de onder 7.7. verkregen oplossing in een maatkolf van 50 ml. Voeg 6 ml 6,35 n zoutzuur toe. Plaats de maatkolf gedurende 15 minuten in een waterbad van 60° C. Meng gedurende de eerste 5 minuten door ronddraaien van de maatkolf (gedurende deze tijd moet de inhoud de temperatuur van het bad hebben bereikt). Koel af tot 20° C en vul met gedestilleerd water van 20° C aan tot de maatstreep. Meng door krachtig schudden en laat de maatkolf 1 uur staan.

7.10. Bepaal de draaiing van de geïnverteerde oplossing bij $20^\circ \pm 2^\circ \text{C}$ in dezelfde buis als gebruikt bij 7.8.

7.11. Bereken het saccharosegehalte als volgt :

$$S = (D - 5/4 I) (2,833 - 0,00612F - 0,00878P) \\ [1 + 0,0037 (t - 20)]$$

waarin :

S = saccharosegehalte

D = aflezing polarimeter voor inversie

I = aflezing polarimeter na inversie

F = vetgehalte van de waar

P = eiwitgehalte van de waar ($N \times 6,38$)

t = temperatuur van de oplossing tot 0,2° C nauwkeurig.

8. Microbiologisch onderzoek

Deze methode zal worden beschreven in een aanvulling bij deze aanbeveling.

1055

7.4. Tout en mélangeant par rotation du ballon jaugé, ajouter 12,5 ml de solution d'acétate de zinc.

7.5. Tout en mélangeant par rotation du ballon jaugé, ajouter 12,5 ml de la solution d'hexacyanoferrate (II) de potassium.

7.6. Porter le contenu du ballon jaugé à 20° C et compléter jusqu'au trait par de l'eau distillée à 20° C. Fermer le ballon jaugé à l'aide d'un bouchon sec et mélanger le contenu en agitant énergiquement.

7.7. Laisser reposer pendant quelques minutes. Filtrer ensuite sur filtre plissé sec en rejetant les 25 premiers millilitres du filtrat.

7.8. Déterminer le pouvoir rotatoire du filtrat à 20° + 2° C.

7.9. Dans un ballon jaugé de 50 ml, pipeter 40 ml de la solution obtenue selon 7.7. Ajouter 6 ml d'acide chlorhydrique 6,35 n. Placer le ballon jaugé pendant 15 minutes au bain-marie à 60° C. Au cours des cinq premières minutes, mélanger par rotation du ballon jaugé. Pendant ce temps, le contenu doit avoir atteint la température du bain. Refroidir jusqu'à 20° C et compléter jusqu'au trait par de l'eau distillée à 20° C. Mélanger en agitant énergiquement et laisser reposer le ballon jaugé pendant 1 heure.

7.10. Déterminer la rotation de la solution invertie à 20° ± 2° C dans le même tube que celui utilisé sous 7.8.

7.11. Calculer comme suit la teneur en saccharose :

$$S = (D - 5/4 I) (2,833 - 0,00612F - 0,00878P) \\ [1 + 0,0037 (t - 20)]$$

où :

S = teneur en saccharose

D = lecture du polarimètre avant inversion

I = lecture du polarimètre après inversion

F = teneur en graisse de la denrée

P = teneur en protéines de la denrée (N x 6,38)

t = température de la solution à 0,2° C près.

8. Examen microbiologique

Cette méthode fera l'objet d'un complément à la présente Recommandation.

1056

AANBEVELING
VAN HET COMITE VAN MINISTERS
VAN 11 DECEMBER 1968
INZAKE
DE TOEPASSING VAN BENELUX-REFERENTIE-
METHODEN VAN ONDERZOEK, BEHORENDE
BIJ DE AANBEVELING M (65) 7
INZAKE DE HARMONISATIE DER
WETGEVINGEN BETREFFENDE MELKPOEDER
M (68) 51

RECOMMANDATION
DU COMITE DE MINISTRES
DU 11 DECEMBRE 1968
CONCERNANT L'APPLICATION DE METHODES
D'ANALYSE DE REFERENCE BENELUX
SE RAPPORANT
A LA RECOMMANDATION M (65) 7, RELATIVE A
L'HARMONISATION DES LEGISLATIONS
EN MATIERE DE LAIT EN POUDRE
M (68) 51

1057

AANBEVELING

van het Comité van Ministers van de Benelux Economische Unie
inzake de toepassing van Benelux-referentiemethoden van
onderzoek, behorende bij de aanbeveling M (65) 7 inzake de
harmonisatie der wetgevingen betreffende melkpoeder

M (68) 51

Het Comité van Ministers van de Benelux Economische Unie,
Gelet op de artikelen 3, 6 en 7 van het Unieverdrag,

Gelet op artikel 9 van de Overgangsovereenkomst,

Gelet op de Aanbeveling van het Comité van Ministers van
31 maart 1965 inzake de harmonisatie der wetgevingen betref-
fende melkpoeder, M (65) 7,

Overwegende, dat geschillen, voortvloeiende uit het toepassen
van verschillende analysemethoden of uit het gebruik van
verschillende normen, dienen te worden vermeden,

Overwegende, dat het in het bijzonder voor de harmonisatie
van het voedingsmiddelentoezicht vereist is, dat gelijke of
gelijkwaardige methoden worden toegepast, dezelfde termen
worden gebezigd en gelijke of gelijkwaardige normen worden
aangelegd,

Beveelt aan :

Enig artikel

De Regeringen der drie Beneluxlanden worden uitgenodigd
bijaande analysemethoden betreffende melkpoeder vóór 1 juli
1969 in hun wetgeving op te nemen als enig geldige referentie-
methoden.

Gedaan te Brussel, op 11 december 1968.

De Voorzitter van het Comité van Ministers,

P. GREGOIRE

1057

RECOMMANDATION

**du Comité de Ministres de l'Union Economique Benelux
concernant l'application de méthodes d'analyse de référence
Benelux se rapportant à la recommandation M (65) 7, relative
à l'harmonisation des législations en matière de lait en poudre**

M (68) 51

Le Comité de Ministres de l'Union économique Benelux,

Vu les articles 3, 6 et 7 du Traité d'Union,

Vu l'article 9 de la Convention transitoire,

Vu la Recommandation du Comité de Ministres du 31 mars 1965,
relative à l'harmonisation des législations en matière de lait
en poudre, M (65) 7,

Considérant qu'il y a lieu d'éviter des contestations nées de
l'application de techniques d'analyse différentes ou de l'emploi
de normes différentes,

Considérant qu'en particulier l'harmonisation du contrôle des
denrées alimentaires exige la mise en œuvre de techniques
identiques ou équivalentes et l'emploi de modes d'expression
semblables et le recours à des normes identiques ou équiva-
lentes,

Recommande :

Article unique

Les Gouvernements des trois pays du Benelux sont invités
à introduire, avant le 1^{er} juillet 1969 dans leurs législations,
comme seules méthodes de référence valables, les méthodes
d'analyse ci-annexées relatives au lait en poudre.

Fait à Bruxelles, le 11 décembre 1968.

Le Président du Comité de Ministres,

P. GREGOIRE

Analysemethode voor melkpoeder

M (68) 51, Bijlage

1. Voorbereiding van het monster

Ga uit van een goed gehomogeniseerd monster. Vermijd bij het homogeniseren zoveel mogelijk de opname of afgifte van vocht.

2. Vocht

2.1. Weeg snel ongeveer 2 g van de waar af tot op 1 mg nauwkeurig in een metalen schaalte (van aluminium of nikkel) met een diameter van ca. 4 cm en voorzien van een goed sluitend deksel.

2.2. Droog in een voorgedroogde luchtstroom gedurende 2 uur bij $99 \pm 1^\circ \text{C}$.

2.3. Bedek het schaalte met het deksel, laat in een exsiccator afkoelen tot kamertemperatuur en weeg.

2.4. Herhaal het drogen telkens gedurende 1 uur tot het gewichtsverlies tussen twee opeenvolgende wegingen niet meer bedraagt dan 2 mg.

2.5. Het gewichtsverlies, berekend op 100 g van de waar, is het vochtgehalte.

3. Vet

Reagentia :

- Ammonia, 25 gew. %
- Ethanol, 96 vol. %
- Diethylether, peroxidevrij
- Petroleumether, kookpunt $40 - 60^\circ \text{C}$.

Apparatuur

— Extractiebuisen volgens Mojonnier : zie tekening blz. 1063.

3.1. Breng ca. 1,0000 g van het monster in de extractiebuis en voeg toe 9 ml water. Verwarm zonodig in een waterbad van ca. 65°C totdat het monster, onder herhaald rondwervelen van de vloeistof, gelijkmatig is verdeeld.

3.2. Voeg 2 ml ammonia toe. Houd de extractiebuis vertikaal, verwarm gedurende 15 minuten in een waterbad van ca. 65°C en meng gedurende deze tijd de inhoud van de extractiebuis zorgvuldig. Koel daarna af tot ca. 20°C .

3.3. Voeg 10 ml ethanol toe en meng de vloeistoffen door de buis enige malen uit de verticale stand in een bijna horizontale stand te brengen.

1058

Méthode d'analyse pour le lait en poudre**M (68) 51, Annexe****1. Préparation de l'échantillon**

Travailler avec un échantillon bien homogénéisé. Eviter le plus possible lors de l'homogénéisation, que l'échantillon prenne ou cède de l'humidité.

2. Humidité

2.1. Peser rapidement à 1 mg près 2 g de la denrée dans un creuset métallique (en aluminium ou nickel) d'un diamètre d'environ 4 cm et pourvu d'un couvercle bien hermétique.

2.2. Dessercher dans un courant d'air sec pendant 2 h à $99 \pm 1^\circ \text{C}$.

2.3. Couvrir la capsule avec le couvercle, laisser refroidir en exsiccateur jusqu'à température ordinaire et peser.

2.4. Répéter les dessiccations chaque fois pendant 1 h jusqu'à ce que la perte de poids entre 2 pesées consécutives ne dépasse plus 2 mg.

2.5. La perte de poids, calculée sur 100 g de la denrée, constitue la teneur en humidité.

3. Graisse*Réactifs :*

- Ammoniaque 25 % en poids
- Ethanol 96 % en vol.
- Ether diéthylique, exempt de peroxyde
- Ether de pétrole, point d'ébullition 40 - 60° C.

Appareillage

— Tubes d'extraction d'après Mojonier : voir croquis page 1063.

3.1. Introduire env. 1,0000 g de l'échantillon dans le tube d'extraction et ajouter 9 ml d'eau. Si nécessaire chauffer au bain-marie à env. 65° C, en agitant prudemment et régulièrement jusqu'à ce que l'échantillon soit réparti uniformément.

3.2. Ajouter 2 ml d'ammoniaque. Tenir le tube d'extraction verticalement, chauffer durant 15 min. au bain-marie à 65° C en mélangeant soigneusement le contenu du tube. Refroidir jusqu'à env. 20° C.

3.3. Ajouter 10 ml d'éthanol et mélanger les liquides en inclinant à plusieurs reprises le tube de la position verticale à une position presque horizontale.

1059

3.4. Voeg 25 ml diethylether toe en sluit de buis met een met water bevochtigde kurk. Schud de extractiebuis krachtig gedurende 1 minuut en houd de buis daarbij zodanig horizontaal dat de vloeistof zich in het wijde gedeelte bevindt.

3.5. Open de buis en voeg 25 ml petroleumether toe. Sluit de buis en schud haar gedurende 30 sec. als boven, doch niet te krachtig.

3.6. Laat de extractiebuis met de sluiting naar boven zo lang staan (ten minste 30 min.) of centrifugeer haar zo lang bij 500/600 omwentelingen per minuut (ten minste 1 min.) tot de bovenlaag volkomen helder is geworden en zich volledig van de waterlaag heeft gescheiden.

3.7. Giet voorzichtig zoveel mogelijk van de etherlaag in een gedroogd en gewogen kolfje van 250 ml met platte bodem, waarin zich enige kooksteentjes bevinden. Spoel de kurk en de buitenzijde van de hals van de extractiebuis met enige ml petroleumether af en vang deze spoelvloeistof in hetzelfde kolfje op. Houd de extractiebuis vertikaal en spoel de binnenzijde van de hals met een weinig petroleumether af. Herhaal de extractie met telkens 25 ml diethylether en 25 ml petroleumether nog twee keer. Schenk de extractievloeistoffen en spoelvloeistoffen in hetzelfde kolfje, waarin zich de eerste extractievloeistof bevindt.

3.8. Spoel de binnenzijde van de hals van het kolfje met een weinig petroleumether af. Destilleer voorzichtig de vluchtige bestanddelen af.

3.9. Droog het kolfje met inhoud gedurende 1 h bij $102 \pm 2^\circ \text{C}$, waarbij het kolfje horizontaal in de droogstoof moet liggen. Laat afkoelen tot kamertemperatuur en weeg.

3.10. Herhaal deze bewerking, waarbij telkens 30 minuten wordt gedroogd, totdat het gewicht van het kolfje niet meer afneemt. Het gewicht van het residu, berekend op 100 g van de waar, is het vetgehalte.

4. Melkzuur

Reagentia :

— Kopersulfaat-oplossing I : los 5 g kopersulfaat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) op in gedestilleerd water en verdun tot 100 ml.

— Kopersulfaat-oplossing II : los 250 g kopersulfaat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) op in gedestilleerd water en verdun tot 1.000 ml.

— Calciumhydroxide-suspensie : wrijf 300 g calciumhydroxide ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) aan met 900 ml gedestilleerd water. Bewaar de verkregen suspensie in een goed gesloten fles.

— Zwavelzuur, 95,5 — 97 %.

1059

3.4. Ajouter 25 ml d'éther diéthylique et boucher le tube au moyen d'un bouchon en liège humidifié. Agiter le tube d'extraction énergiquement pendant 1 minute en tenant le tube horizontal de telle façon que le liquide se trouve dans la partie large du tube.

3.5. Ouvrir le tube et ajouter 25 ml d'éther de pétrole. Fermer le tube et l'agiter pendant 30 sec. comme indiqué plus haut mais pas trop énergiquement.

3.6. Laisser reposer le tube d'extraction avec la fermeture au-dessus (au moins 30 min.) ou le centrifuger à 500/600 tours par minute (au moins 1 min.) jusqu'à ce que la couche supérieure soit entièrement limpide et se soit complètement séparée de la couche aqueuse.

3.7. Verser prudemment le plus possible de la couche étherée dans un ballon à fond plat préalablement séché et pesé dans lequel se trouvent quelques grains de pierre-ponce. Rincer le bouchon et l'extérieur du col du tube en récupérant les liquides de rinçage dans le même ballon. Tenir le tube d'extraction verticalement et rincer l'intérieur du col avec un peu d'éther de pétrole. Répéter l'extraction encore deux fois, les deux fois avec 25 ml d'éther diéthylique et 25 ml d'éther de pétrole. Verser les liquides d'extraction et de rinçage dans le même ballon où se trouve le liquide de la première extraction.

3.8. Rincer l'intérieur du col du ballon avec un peu d'éther de pétrole. Distiller prudemment la fraction volatile.

3.9. Sécher le ballon avec son contenu pendant 1 h à $102 \pm 2^\circ \text{C}$; pendant cette dessiccation maintenir le ballon horizontalement dans l'étuve. Laisser refroidir jusqu'à température ordinaire et peser.

3.10. Répéter cette dessiccation chaque fois pendant 30 minutes, jusqu'à ce que le poids du ballon ne diminue plus. Le poids du résidu, calculé sur 100 g de denrée, constitue la teneur en graisse.

4. Acide lactique

Réactifs :

— Solution de sulfate de cuivre I : dissoudre 5 g de sulfate de cuivre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) dans de l'eau distillée et diluer jusqu'à 100 ml.

— Solution de sulfate de cuivre II : dissoudre 250 g de sulfate de cuivre ($\text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O}$) dans de l'eau distillée et diluer jusqu'à 1.000 ml.

— Suspension d'hydroxyde calcique : triturer 300 g d'hydroxyde calcique ($\text{Ca}(\text{OH})_2$) en présence de 900 ml d'eau distillée. Conserver la suspension obtenue dans un flacon bien bouché.

— Acide sulfurique 95,5 — 97 %.

1060

— Zwavelzuur-kopersulfaat-oplossing : voeg 0,5 ml kopersulfaat-oplossing I toe aan 60 ml zwavelzuur en meng.

— p-hydroxydifenyl-reagens : los 1,5 g p-hydroxydifenyl op in 10 ml 5 % NaOH-oplossing door verwarmen en roeren. Vul aan tot 100 ml met gedestilleerd water. Bewaar deze oplossing in een fles van bruin glas in het donker. Het reagens is niet langer dan 4 weken houdbaar.

— Standaard-melkzuur-oplossing : los onmiddellijk voor het gebruik 0,1067 g lithiumlactaat op in gedestilleerd water en verdun tot 1.000 ml. Deze oplossing bevat 0,1 mg melkzuur per ml.

4.1. Weeg $\frac{870}{a - 8,7}$ g van het monster af tot op 0,1 g nauwkeurig,

(waarbij a = het gehalte aan vetvrije droge stof in het monster). Los deze hoeveelheid op in 100 ml water.

4.2. Pipetteer van de aldus verkregen oplossing 5 ml in een maatkolf van 50 ml en verdun met gedestilleerd water tot ongeveer 35 ml. Breng ten behoeve van een blanco bepaling in een tweede maatkolf van 50 ml ongeveer 35 ml water. Behandel beide kolven als omschreven in 4.3.

4.3. Voeg 0,5 ml kopersulfaat-oplossing I toe, meng en verwarm de inhoud van de kolven in een waterbad van ongeveer 90° C tot 46 ± 1° C. Meng tijdens het opwarmen.

Voeg onder voortdurend schudden 5 ml kopersulfaat-oplossing II toe, plaats de kolven in een waterbad van 46 ± 1° C en laat ze hierin gedurende 10 minuten staan.

Voeg vervolgens op dezelfde wijze 5 ml calciumhydroxide-suspensie toe, plaats de kolven wederom in het waterbad van 46 ± 1° C en laat ze hierin nog eens 10 minuten staan.

Koel af tot kamertemperatuur, vul aan met gedestilleerd water tot 50 ml, schud krachtig tot de inhoud van de kolven homogeen is en filtreer.

4.4. Pipetteer in een glazen buis 1 ml van het onder 4.3. verkregen filtraat en in een andere gelijke buis 1 ml van het filtraat verkregen door behandeling van het gedestilleerd water met de klaringsvloeistoffen. Behandel beide buizen als volgt : voeg 6,0 ml zwavelzuur-kopersulfaat-oplossing toe en meng. Verwarm de buizen, los afgedekt met rubberstoppen, gedurende 5 minuten in een kokend waterbad en koel af tot kamertemperatuur. Voeg 2 druppels p-hydroxydifenyl-reagens toe en schud krachtig teneinde het reagens zeer fijn verdeeld in de vloeistof te brengen.

Plaats de buizen in een waterbad van 30 ± 2° C, laat ze gedurende 15 minuten er in staan en schud van tijd tot tijd.

Verhit de inhoud van de buizen, waarbij deze wederom los worden afgedekt met rubberstoppen, gedurende 90 sec. in een kokend waterbad

1060

— Solution acide sulfurique-sulfate de cuivre : ajouter 0,5 ml de sol. I de sulfate de cuivre à 60 ml d'acide sulfurique et mélanger.

— Réactif au p-hydroxydiphényle : dissoudre en chauffant et en agitant 1,5 g de p-hydroxydiphényle dans 10 ml d'une solution de NaOH 5 %. Conserver cette solution en flacon en verre brun et à l'abri de la lumière. Le réactif ne se conserve pas plus de 4 semaines.

— Solution étalon d'acide lactique : dissoudre immédiatement avant l'emploi 0,1067 g de lactate de lithium dans de l'eau distillée et diluer jusqu'à 1.000 ml. Cette solution contient 0,1 mg d'acide lactique par ml.

4.1. Peser à 0,1 g près $\frac{870}{a - 8,7}$ g de l'échantillon (a représentant

la teneur en matière sèche dégraissée de l'échantillon). Dissoudre cette quantité dans 100 ml d'eau.

4.2. Pipeter 5 ml de la solution ainsi obtenue dans un ballon jaugé de 50 ml et diluer avec de l'eau distillée jusqu'à env. 35 ml. Pour le blanc introduire env. 35 ml d'eau dans un deuxième ballon jaugé de 50 ml. Traiter les deux ballons comme indiqué en 4.3.

4.3. Ajouter 0,5 ml de la solution sulfate de cuivre I, mélanger et chauffer à $46 \pm 1^\circ \text{C}$ le contenu des ballons plongés dans un bain-marie à env. 90°C . Mélanger en chauffant.

Ajouter sous agitation continue 5 ml de solution de sulfate de cuivre II, plonger les ballons dans un bain-marie à $46 \pm 1^\circ \text{C}$ et les y maintenir pendant 10 minutes.

Ensuite ajouter de la même façon 5 ml de suspension d'hydroxyde calcique, plonger les ballons à nouveau au bain-marie à $46 \pm 1^\circ \text{C}$ et les y maintenir encore une fois pendant 10 minutes.

Refroidir à température ordinaire, ajuster avec de l'eau distillée jusqu'à 50 ml, agiter énergiquement jusqu'à ce que le contenu des ballons soit homogène, filtrer.

4.4. Pipeter dans un tube en verre 1 ml du filtrat obtenu sous 4.3. et dans un tube identique 1 ml du filtrat obtenu lors du traitement de l'eau distillée avec les liquides défécants. Traiter les deux tubes comme suit : ajouter 6,0 ml de solution d'acide sulfurique-sulfate de cuivre et mélanger. Chauffer pendant 5 minutes dans un bain-marie bouillant les tubes fermés d'une manière lâche au moyen d'un bouchon en caoutchouc ; refroidir jusqu'à température ordinaire. Ajouter 2 gouttes de réactif au p-hydroxydiphényl et agiter énergiquement afin de bien répartir le réactif dans le liquide.

Mettre les tubes au bain-marie à $30 \pm 2^\circ \text{C}$, les y maintenir pendant 15 minutes et agiter de temps en temps.

Réchauffer le contenu des tubes légèrement fermés au moyen d'un bouchon en caoutchouc, pendant 90 sec. dans un bain-marie bouillant

1061

en koel vervolgens snel af tot 20° C in koud water. Meet het verschil in extinctie tussen beide vloeistoffen bij een golflengte van 570 nm. Bepaal met behulp van de ijklijn, verkregen als beschreven onder 4.5. het percentage melkzuur in de gereconstitueerde melk verkregen op de in 4.1. beschreven wijze.

Herhaal het onderzoek, indien het percentage melkzuur in de gereconstitueerde melk groter dan 0,010 % blijkt te zijn, met een passende verdunning van het filtraat, verkregen onder 4.3.

4.5. Bepaal de ijklijn als volgt :

pipetteer in een viertal maatkolven van 50 ml telkens 5 ml gereconstitueerde melk bereid uit melkpoeder op de wijze als aangegeven onder 4.1. Dit melkpoeder dient deugdelijk te zijn en bereid uit melk die geen verzuringsmelkzuur bevat. Neem hiervoor zo mogelijk poeder van hetzelfde type als het te onderzoeken monster.

Breng in deze kolven resp. 0, 1, 2 en 4 ml van de standaard-melkzuuroplossing en vul aan met gedestilleerd water tot ongeveer 35 ml. Handel verder als beschreven onder 4.3. en 4.4. en meet het verschil in extinctie met de blanco bepaling als bedoeld in 4.2.

Zet de verschillen in extinctie, die de reeksleden vertonen ten opzichte van de blanco, af als functie van het percentage toegevoegd melkzuur. Trek door de punten een lijn en verplaats deze evenwijdig aan zichzelf naar de oorsprong. De ijklijn behoort een rechte te zijn.

4.6. Melkzuur wordt geacht slechts in sporen aanwezig te zijn indien het gehalte verkregen volgens 4.4. niet meer dan 0,02 % bedraagt.

5. Fosfatase

Reagentia :

— Natriumhydroxide-oplossing 0,5 n.

— Fosfatase-reagens A.

Los 0,11 g dinatriumfenylfosfaat op in 80 à 90 ml water, voeg hierbij 3 ml 0,25 molair natriumcarbonaat-oplossing (2,65 g watervrij natriumcarbonaat per 100 ml) en vul aan tot 100 ml.

Bereid deze oplossing voor elk onderzoek vers.

— Fosfatase-reagens B.

Los 23 mg 2,6-dibroomchinonchloorimide op in 5 ml ethanol 96 vol. %. Bewaar de oplossing koel en in het donker en niet langer dan 4 weken.

5.1. Maak van het melkpoeder met water, zonder verwarming een zodanige oplossing dat de concentratie aan vetvrije droge melkbestanddelen ongeveer overeenkomt met die van ondermelk.

1061

et refroidir rapidement jusqu'à 20° C dans l'eau froide. Mesurer la différence d'extinction des deux liquides à la longueur d'onde de 570 nm. Déterminer le pourcentage d'acide lactique dans le lait reconstitué obtenu selon le procédé décrit sous 4.1. au moyen de la droite d'étalonnage obtenue comme décrite sous 4.5.

Si le pourcentage en acide lactique dans le lait reconstitué est supérieur à 0,010 % répéter l'essai avec une dilution adéquate du filtrat, obtenu sous 4.3.

4.5. Etablir la droite d'étalonnage comme suit :

dans 4 ballons jaugés de 50 ml introduire respectivement 5 ml de lait reconstitué à partir d'une poudre de lait comme décrit sous 4.1. Cette poudre de lait doit être de bonne qualité et préparée à partir d'un lait ne contenant pas d'acide lactique d'acidification. Prendre autant que possible une poudre du même type que l'échantillon à examiner.

Introduire dans ces ballons respectivement 0, 1, 2 et 4 ml de la solution étalon d'acide lactique et compléter avec de l'eau distillée jusqu'à env. 35 ml. Continuer comme décrit sous 4.3. et 4.4. et mesurer la différence d'extinction avec le blanc comme indiqué en 4.2.

Porter sur un diagramme les différences d'extinction présentées par les éléments de la gamme d'étalonnage en fonction du pourcentage d'acide lactique additionné. Joindre les points qui doivent se placer sur une droite. Déplacer la droite parallèlement à elle-même de façon à la faire passer par l'origine.

4.6. L'acide lactique est considéré n'être présent qu'en traces si la teneur obtenue selon 4.4. n'atteint pas plus que 0,02 %.

5. Phosphatase

Réactifs :

— Solution d'hydroxyde sodique 0,5 n.

— Réactif phosphatase A.

Dissoudre 0,11 g de phénylphosphate disodique dans 80 à 90 ml d'eau, ajouter 3 ml de solution de carbonate sodique 0,25 molaire (2,65 g carbonate sodique anhydre par 100 ml) et compléter à 100 ml.

Préparer une solution fraîche lors de chaque examen.

— Réactif phosphatase B.

Dissoudre 23 mg de 2,6-dibromoquinonechlorimide dans 5 ml d'éthanol 96 %. Conserver la solution au frais et à l'obscurité pendant maximum 4 semaines.

5.1. Au moyen de la poudre de lait préparer avec de l'eau, sans chauffer, une solution telle que la concentration en matières sèches dégraissées corresponde environ à celle du lait écrémé.

1062

Neutraliseer, zo nodig, met een natriumhydroxide-oplossing 0,5 n ten opzichte van lakmoespapier.

5.2. Pipetteer in twee reageerbuizen elk 0,5 ml van de te onderzoeken waar. Plaats een der beide buizen gedurende 5 min. in een waterbad van 85° C en koel daarna af tot kamertemperatuur.

5.3. Voeg aan beide reageerbuizen met een meetpipet 5 ml fosfatase-reagens A toe; sluit de buizen met een rubberstop en bewaar deze bij een temperatuur tussen 30 en 35° C.

5.4. Voeg na 1 h 6 druppels van fosfatase reagens B toe en meng. Vergelijk na 5 min. de kleuren der beide buizen.

5.5. Indien de inhoud van de buis met de verhitte melk zwakker blauw is dan de inhoud van de andere buis, wordt fosfatase in het onderzochte monster geacht aanwezig te zijn.

5.6. Verhoogde gevoeligheid van de reactie. Voeg in twijfelgevallen aan beide buizen 2 ml normaal primair butanol toe. Keer de buizen daarop achtmaal voorzichtig om, telkens wachtend totdat de vloeistof-lagen zich gescheiden hebben. Eventueel gevormde blauwe of blauw-groene kleurstof lost in de heldere bovenlaag op, waardoor de kleur-vergelijking aanzienlijk wordt verscherpt.

5.7. Opmerking :

Grote reinheid van buizen, pipetten, stoppen, enz. is een eerste eis, daar geringe verontreinigingen bv. met fenolen en daarmee verwante stoffen een positieve reactie kunnen veroorzaken. Voorts bedenken men dat speeksel fosfatase bevat.

6. Microbiologisch onderzoek

Deze methode zal worden beschreven in een aanvulling bij deze Aanbeveling.

1062

Si nécessaire neutraliser au papier de tournesol au moyen d'une solution d'hydroxyde sodique 0,5 n.

5.2. Pipeter dans chacun de 2 tubes à essais 0,5 ml de la denrée à examiner. Placer un des tubes au bain-marie à 85° C pendant 5 min. et refroidir ensuite jusqu'à température ordinaire.

5.3. Ajouter aux 2 tubes à essais avec une pipette jaugée 5 ml de réactif phosphatase A ; boucher les tubes avec un bouchon en caoutchouc et les conserver à une température comprise entre 30 et 35° C.

5.4. Après 1 h ajouter 6 gouttes de réactif phosphatase B et mélanger. Comparer après 5 minutes la coloration des deux tubes.

5.5. Si la teinte bleue du tube contenant le lait chauffé est inférieure à celle de l'autre tube, l'échantillon est considéré comme contenant des phosphatases.

5.6. Technique améliorée de la réaction. En cas de doute ajouter aux deux tubes 2 ml de butanol primaire normal. Ensuite retourner prudemment les tubes 8 fois, en attendant chaque fois que les couches se soient séparées. Le colorant bleu ou bleu-vert éventuellement formé se dissout dans la couche limpide supérieure ; la comparaison des colorations est ainsi notablement améliorée.

5.7. Remarque :

Il y a lieu d'exiger une grande propreté des tubes, pipettes, bouchons, etc., car la moindre souillure par des phénols ou des substances apparentées peut donner une réaction positive. Ensuite il y a lieu de tenir compte du fait que la salive contient des phosphatases.

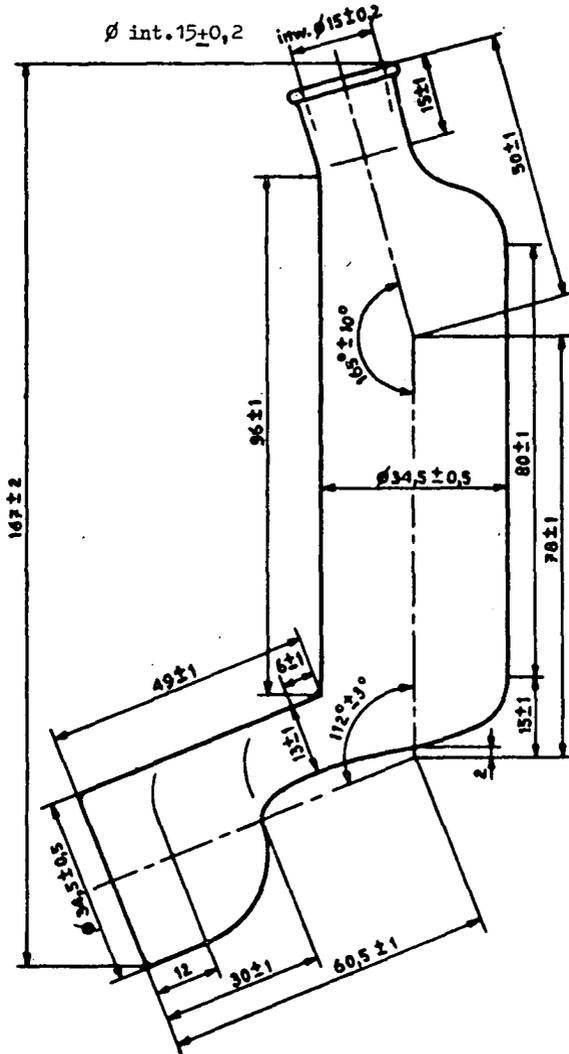
6. Examen microbiologique

Cette méthode fera l'objet d'un complément à la présente Recommandation.

Mesures en mm

Maten in mm

Tube à extraction suivant Mojonnier
 Extractiebuis volgens Mojonnier
 hals inw. conisch
 conicité intérieure du col 1:10



inhoud van het voetje $21,5 \pm 0,5$ ml
 glasdikte $1,25 \pm 0,25$ mm
 contenu du pied $21,5 \pm 0,5$ ml
 épaisseur du verre $1,25 \pm 0,25$ mm

1063

AANBEVELING
VAN HET COMITE VAN MINISTERS
VAN 11 DECEMBER 1968
INZAKE
DE TOEPASSING VAN BENELUX-REFERENTIE-
METHODEN VAN ONDERZOEK, BEHORENDE
BIJ DE AANBEVELING M (63) 20
INZAKE DE HARMONISATIE DER
WETGEVINGEN BETREFFENDE ZETMEEL EN
PUDDINGPOEDER

M (68) 52

RECOMMANDATION
DU COMITE DE MINISTRES
DU 11 DECEMBRE 1968
CONCERNANT L'APPLICATION DE METHODES
D'ANALYSE DE REFERENCE BENELUX
SE RAPPORTANT
A LA RECOMMANDATION M (63) 20, RELATIVE A
L'HARMONISATION DES LEGISLATIONS
EN MATIERE DE FECULES
ET POUDES POUR PUDDING

M (68) 52

1064

AANBEVELING

**van het Comité van Ministers van de Benelux Economische Unie
inzake de toepassing van Benelux-referentiemethoden van
onderzoek, behorende bij de aanbeveling M (63) 20 inzake de
harmonisatie der wetgevingen betreffende
zetmeel en puddingpoeder**

M (68) 52

Het Comité van Ministers van de Benelux Economische Unie,

Gelet op de artikelen 3, 6 en 7 van het Unieverdrag,

Gelet op artikel 9 van de Overgangsovereenkomst,

Gelet op de Aanbeveling van het Comité van Ministers van
23 september 1963 inzake de harmonisatie der wetgevingen
betreffende zetmeel en puddingpoeder, M (63) 20,

Overwegende, dat geschillen, voortvloeiende uit het toepassen
van verschillende analysemethoden of uit het gebruik van
verschillende normen, dienen te worden vermeden,

Overwegende, dat het in het bijzonder voor de harmonisatie
van het voedingsmiddelentoezicht vereist is, dat gelijke of
gelijkwaardige methoden worden toegepast, dezelfde termen
worden gebezigd en gelijke of gelijkwaardige normen worden
aangelegd,

Beveelt aan :

Enig artikel

De Regeringen der drie Beneluxlanden worden uitgenodigd
bijgaande analysemethoden betreffende zetmeel en pudding-
poeder vóór 1 juli 1969 in hun wetgeving op te nemen als
enig geldige referentiemethoden.

Gedaan te Brussel, op 11 december 1968.

De Voorzitter van het Comité van Ministers,

P. GREGOIRE

1064

RECOMMANDATION

**du Comité de Ministres de l'Union économique Benelux
concernant l'application de méthodes d'analyse de référence
Benelux se rapportant à la recommandation M (63) 20, relative
à l'harmonisation des législations en matière de féculés
et poudres pour pudding**

M (68) 52

Le Comité de Ministres de l'Union économique Benelux,

Vu les articles 3, 6 et 7 du Traité d'Union,

Vu l'article 9 de la Convention transitoire,

Vu la Recommandation du Comité de Ministres du 23 septembre 1963, relative à l'harmonisation des législations en matière de féculés et poudres pour pudding, M (63) 20,

Considérant qu'il y a lieu d'éviter des contestations nées de l'application de techniques d'analyse différentes ou de l'emploi de normes différentes,

Considérant qu'en particulier l'harmonisation du contrôle des denrées alimentaires exige la mise en œuvre de techniques identiques ou équivalentes et l'emploi de modes d'expression semblables et le recours à des normes identiques ou équivalentes,

Recommande :

Article unique

Les Gouvernements des trois pays du Benelux sont invités à introduire, avant le 1^{er} juillet 1969 dans leurs législations comme seules méthodes de référence valables, les méthodes d'analyse ci-annexées relatives au féculés et poudres pour pudding.

Fait à Bruxelles, le 11 décembre 1968.

Le Président du Comité de Ministres,

P. GREGOIRE

1065

**Analysemethode voor zetmeel
en puddingpoeder**

M (68) 52, Bijlage

1. Bepaling van het vochtgehalte

Apparatuur

Een elektrisch verwarmde stoof regelbaar tussen 130 en 133° C (1) met voldoende ventilatie (2).

1.1. Breng ongeveer 5 gram van de waar in een weegdoosje met platte bodem en goed sluitend deksel. Bepaal het gewicht tot op 1 mg nauwkeurig.

1.2. Plaats het met het analysemonster gevulde doosje met open deksel gedurende 2 uur in de stoof, berekend vanaf het moment dat de temperatuur van de stoof 130° C weer bereikt heeft. Neem het monster uit de stoof en bepaal het gewicht van het doosje met gesloten deksel na afkoeling in een exsiccator.

1.3. Het gewichtsverlies berekend op 100 g van de waar is het vochtgehalte.

2. Bepaling van het asgehalte

Reagentia :

Ethanol 96 vol. %.

2.1. Weeg nauwkeurig 5-6 gram van de waar af in een van te voren uitgegloeide en getareerde platina schaal. Bevochtig het analyse-materiaal met 1 - 2 ml ethanol.

2.2. Plaats de schaal vóór in een moffeloven en laat de deur open. Schuif de schaal, nadat het materiaal is uitgebrand verder in de oven, waarvan de temperatuur 900° C is. Veras gedurende 2 uur onder een voldoende toevoer van lucht.

2.3 Haal het schaaltje uit de oven en plaats het gedurende 1 min. op een asbest-cementplaat. Koel daarna in een exsiccator af tot kamertemperatuur. Weeg tenslotte snel tot op 0,1 mg nauwkeurig (3).

(1) Temperatuur van de lucht in de buurt van de weegdoosjes. De stoof moet een zodanige verwarmingscapaciteit hebben, dat zij, na van tevoren op 131° C te zijn gebracht, deze temperatuur binnen 45 minuten, nadat het maximale aantal monsters dat tegelijk kan worden gedroogd in de stoof is gebracht, weer bereikt.

(2) De doeltreffendheid van de ventilatie wordt gecontroleerd met durumgries, waarvan de deeltjes niet groter zijn dan 1 mm. De ventilatie moet zodanig zijn dat, wanneer het maximale aantal monsters dat de stoof kan bevatten gedurende 2 en gedurende 3 uur bij 130 - 133° C wordt gedroogd, de resultaten onderling niet meer afwijken dan 0,15 % vocht.

(3) De as is hygroscopisch.

1065

Méthode d'analyse des féculés et poudres pour pudding

M (68) 52, Annexe

1. Détermination de la teneur en humidité

Appareillage

Une étuve électrique réglable entre 130 et 133° C (1) et munie d'une ventilation suffisante (2).

1.1. Introduire environ 5 g de la denrée dans un pèse-filtre (à fond plat) muni d'un couvercle bouchant bien. Déterminer le poids à 1 mg près.

1.2. Placer le pèse-filtre contenant l'échantillon à analyser, ouvert dans l'étuve. L'y maintenir pendant 2 h à partir du moment où la température a de nouveau atteint 130° C. Sortir l'échantillon de l'étuve, refroidir dans un exsiccateur et déterminer le poids du pèse-filtre avec couvercle fermé.

1.3. La perte de poids calculée sur 100 g de denrée constitue la teneur en humidité.

2. Détermination de la teneur en cendres

Réactifs :

Ethanol 96 % vol.

2.1. Dans une capsule en platine préalablement calcinée et tarée, peser exactement 5-6 g de la denrée. Humecter avec 1-2 ml d'éthanol.

2.2. Placer la capsule à l'entrée d'un four à mouffle et laisser le four ouvert. Quant le produit ne brûle plus, glisser la capsule plus loin dans le four dont la température est de 900° C. Calciner pendant 2 h sous une amenée d'air suffisante.

2.3. Sortir la capsule du four et la placer pendant 1 min. sur une plaque d'amiante. Refroidir dans un exsiccateur jusqu'à température ordinaire. Ensuite peser rapidement à 0,1 mg près (3).

(1) Température de l'air au voisinage des pèse-filtres. L'étuve doit avoir une capacité de chauffe telle qu'après un chauffage préalable à 131° C, elle puisse atteindre à nouveau cette température dans les 45 minutes après introduction du nombre maximum d'échantillons que l'on peut y dessécher en une seule opération.

(2) L'efficacité de la ventilation est contrôlée avec de la semoule de blé dur dont les graines ne dépassent pas 1 mm. La ventilation doit être telle que, lorsque l'opération de dessiccation à 130 - 133° C porte sur le maximum d'échantillon que l'étuve peut contenir, les teneurs en humidité obtenues après 2 et après 3 h ne peuvent pas varier de plus de 0,15 %.

(3) Les cendres sont hygroscopiques.

1066

2.4. de hoeveelheid as in percenten van de stof bedraagt :

$$\frac{b - a}{M} \times 100$$

waarin :

- a = gewicht van de lege schaal in grammen
b = gewicht van de schaal met het gloeiresidu in grammen
M = gewicht van het ingewogen analysemateriaal in grammen.

3. Vuilproef (Filth-test)

Reagentia :

- Zoutzuur, 4 n
Ethanol, 96 vol. %
Petroleumether, kooktraject 40 - 60° C
Vloeibare paraffine

Instrumenten :

- Scheitrechter, eindigend in een cilindervorming gedeelte (diameter 1 cm, lengte 8 cm) boven de kraan.
Twee glazen platen, waarvan één voorzien van een lijnenraster van 2 mm. De lijnen moeten genummerd zijn.
Kieselgurfilter, Delta n° 325, of gelijkwaardig, diameter 4 cm.
Filter, SS n° 1575 of gelijkwaardig, diameter 5 cm.
Doorzichtig plakband.

3.1. Breng 100 g van het monster in een konische kolf van 1 liter. Voeg 350 ml water en 50 ml zoutzuur toe. Breng het mengsel onder goed roeren aan de kook en kook gedurende 1 uur. Zorg, dat aan de wand van de kolf boven de vloeistof geen vaste bestanddelen kleven. Laat iets afkoelen.

3.2. Voeg 20 ml paraffine toe, roer krachtig en vul met water aan tot de paraffinelaag in de hals van de kolf staat. Laat de kolf een kwartier rustig staan.

3.3. Vul het cilindervormige gedeelte van de scheitrechter met water en giet de paraffine en een deel van de waterige vloeistof in de scheitrechter. Vul de inhoud van de kolf met water aan en giet wederom af in de scheitrechter. Herhaal deze bewerking totdat alle paraffine in de scheitrechter is overgebracht. Laat een kwartier rustig staan.

3.4. Breng opnieuw 5 ml paraffine in de kolf en roer de gehele inhoud goed om. Vul aan met water tot de paraffinelaag in de hals van de kolf staat. Laat een kwartier rustig staan.

1066

2.4. La teneur en cendres exprimée en % de la denrée est de :

$$\frac{b - a}{M} \times 100$$

dans laquelle :

a = le poids en g de la capsule vide

b = le poids en g de la capsule avec le résidu de calcination

M = le poids en g de la prise d'essai.

3. Filth-test

Réactifs :

Acide chlorhydrique, 4 n.

Ethanol, 96 % vol.

Ether de pétrole, P.E. 40 - 60° C.

Paraffine liquide

Appareillage :

Ampoule à décantation, terminée par un corps cylindrique (diamètre 1 cm, longueur 8 cm) au-dessus du robinet.

Deux plaques de verre, dont une dotée d'un quadrillage à écartement de 2 mm. Les traits doivent être numérotés.

Filtre au kieselgur, Delta n° 325, ou équivalent, diamètre 4 cm.

Filtre, SS n° 1575 ou équivalent, diamètre 5 cm.

Bande adhésive transparente.

3.1. Déposer 100 g de l'échantillon dans un vase conique de 1 litre. Ajouter 350 ml d'eau et 50 ml d'acide chlorhydrique. Porter le mélange à ébullition, tout en le remuant, et maintenir l'ébullition pendant 1 heure. Veiller à ce qu'aucun composant solide n'adhère à la paroi du vase, au-dessus du liquide. Laisser refroidir quelque peu.

3.2. Ajouter 20 ml de paraffine, remuer énergiquement et ajouter de l'eau jusqu'à ce que la couche de paraffine se trouve dans le col du vase. Laisser reposer le vase pendant 15 min.

3.3. Remplir d'eau le corps cylindrique de l'ampoule à décantation, transvaser la paraffine et une partie du liquide aqueux dans l'ampoule à décantation. Compléter le volume du vase avec de l'eau et transvaser à nouveau dans l'ampoule à décantation. Répéter cette opération jusqu'à ce que toute la paraffine soit passée dans l'ampoule à décantation. Laisser reposer pendant 15 min.

3.4. Introduire à nouveau 5 ml de paraffine dans le vase et agiter convenablement tout le contenu. Ajouter de l'eau jusqu'à ce que la couche de paraffine se trouve dans le col du vase. Laisser reposer pendant 15 min.

3.5. Laat het water uit de scheitrechter weglopen, er voor zorgdragend, dat het cilindervormige gedeelte met water gevuld blijft. Giet vervolgens de paraffinelaag uit de kolf en een deel van de waterige oplossing in de scheitrechter.

3.6. Herhaal de bewerkingen 3.4. en 3.5. nog tweemaal.

3.7. Laat wederom het grootste deel van het water uit de scheitrechter weglopen en voeg 300 ml water toe. Schud om en tap, na een kwartier rustig staan, het water grotendeels af. Herhaal deze bewerking tot het aflopende water helder is.

3.8. Voeg toe 100 ml petroleumether en 200 ml water. Schud om en laat, na een kwartier staan, zoveel water af, totdat slechts enkele ml overblijven.

3.9. Leg in een Buchnertrechter van 4 cm diameter een kieselguhr-filter en daarop het filter SS n° 1575. Laat de rand hiervan tegen de wand van de Buchnertrechter aansluiten.

3.10. Breng de vloeistof uit de scheitrechter bij gedeelten op het filter en zuig af. Bedek de Buchnertrechter hierbij met een horlogeglas. Was de scheitrechter met water geheel schoon en breng het waswater op het filter. Was tenslotte viermaal met 20 ml ethanol.

3.11. Breng het filter over in een Petrischaal en droog het hierin, afgedekt, bij 60° C. Bevochtig het filter met enige druppels paraffine en laat deze zich over het gehele oppervlak uitbreiden.

3.12. Plaats het filter zodanig tussen de twee glazen platen, dat het raster van de verdeelde glasplaat direct op het filter komt te liggen. Fixeer de beide glazen platen met doorzichtige plakbanden.

3.13. Tel onder zwakke vergroting het aantal insecten, mijten en de fragmenten hiervan alsmede het aantal haren van knaagdieren voorkomend op het gehele filter.

3.14. Geef de uitkomst op per 100 g materiaal.

4. Aantonen van conserveermiddelen

Lijst van reagentia

— Aangezuurde ether : 98 vol. ether + 2 vol. ijszijn.

— Watervrij : natriumsulfaat.

— Standaard-oplossingen : 1 % in ethanol.

— Platen voor dunnelaagchromatografie : meng met een mixer 15 g Kieselgel G en 15 g Kieselgur G met 60 ml van een 0,02 % waterige Ultraphoroplossing. De Ultraphor W.T. (B.A.S.F.) moet regelmatig vernieuwd worden (bewaren in bruine fles). Breng het homogene mengsel met een laagdikte van 0,25 mm aan op de dunnelaagplaten.

1067

3.5. Laisser s'écouler l'eau de l'ampoule à décantation tout en veillant à ce que la partie cylindrique reste remplie d'eau. Transvaser ensuite, dans l'ampoule à décantation, la couche de paraffine du vase et une partie de la solution aqueuse.

3.6. Répéter deux fois les opérations 3.4 et 3.5.

3.7. Laisser à nouveau s'écouler la majeure partie de l'eau de l'ampoule à décantation, ajouter 300 ml d'eau. Agiter, puis, après avoir laissé reposer pendant 15 minutes, évacuer la plus grande partie de l'eau. Répéter cette opération jusqu'à ce que l'eau évacuée soit limpide.

3.8. Ajouter 100 ml d'éther de pétrole et 200 ml d'eau. Agiter et, après avoir laissé reposer pendant 15 minutes, évacuer l'eau jusqu'à ce qu'il n'en reste plus que quelques ml.

3.9. Sur un filtre Buchner de 4 cm de diamètre, placer un filtre au kieselguhr surmonté du filtre SS n° 1575. Faire adhérer ce dernier au pourtour de la paroi du Buchner.

3.10. Verser, par fractions de liquide de l'ampoule à décantation sur le filtre et aspirer, en couvrant le Buchner d'un verre de montre. Rincer complètement l'ampoule à décantation à l'eau et verser l'eau de rinçage sur le filtre. Rincer à quatre reprises avec 20 ml d'éthanol.

3.11. Déposer le filtre dans une boîte de Pétri et le sécher à 60° C. Imprégner le filtre par quelques gouttes de paraffine réparties sur la surface.

3.12. Placer le filtre entre les deux plaques de verre, de telle sorte que les traits de la plaque quadrillée soient directement en contact avec le filtre. Fixer les deux plaques de verre à l'aide de bandes transparentes.

3.13. Compter sous faible grossissement les insectes, les acariens, leurs fragments ainsi que les poils de rongeurs, présents sur toute la surface du filtre.

3.14. Exprimer le résultat pour 100 g de matière.

4. Recherche des antiseptiques

Liste des réactifs

— Ether acidifié : 98 vol. éther + 2 vol. d'acide acétique glacial

— Sulfate de sodium anhydre

— Solutions témoins : 1 % dans l'éthanol

— Plaques pour chromatographie en couche mince : mélanger 15 g de Kieselgel G et 15 g de Kieselgur G avec 60 ml d'une solution aqueuse à 0,02 % d'Ultraporph. La solution d'Ultraporph W.T. (B.A.S.F.) doit être de préparation récente (conserver dans un flacon brun). Étaler le mélange homogène sur des plaques pour chromatographie

1068

Droog de platen aan de lucht, en aktiveer vervolgens door verwarming op 110° C gedurende 30 minuten.

— Loopvloeistof : meng 100 vol. petroleumether, 40 vol. chloroform en 10 vol. mierenzuur.

Chromatografiekamer : verzadigd met de loopvloeistof.

Detectiemiddelen

— Benzoëzuur :

a) 4,5 ml H₂O₂ (30 %)

4,5 ml water

1 ml Mn SO₄ verzadigd

b) 0,3 % Fe SO₄ oplossing

— Sorbinezuur :

a) meng 5 vol. van een waterige 0,5 % K₂Cr₂O₇ oplossing + 5 vol. H₂SO₄ 0,3 n.

b) verzadigde thiobarbituurzuuroplossing in water.

— Salicylzuur : 0,1 % waterige FeCl₃ oplossing.

— Dehydroazijnzuur : 0,1 % waterige FeCl₃ oplossing.

— Broomazijnzuur :

a) meng 3 vol. van een phenolrood-oplossing (24 mg phenolrood in 2,4 ml NaOH 0,1 n, aanvullen tot 100 ml met aceton) met 1 vol. natriumacetaatoplossing (6 g natriumacetaat + 3 vol. azijnzuur, aanvullen met water tot 100 ml).

b) chloramine T oplossing : los 25 mg chloramine T op in 15 ml van een mengsel aceton-water 1 : 1.

— Parahydroxybenzoëzuur en zijn esters : Millon's reagens. Los 10 g kwik op in 10 g rokend salpeterzuur. Voeg 10 à 20 ml water toe. Filtreer het eventuele neerslag af.

4.1. Isolatie

4.1.1. Schud 10 g van het produkt met 50 ml van de aangezuurde ether gedurende 3 minuten.

4.1.2. Laat bezinken en breng voorzichtig de etherlaag op een filter. Herhaal deze bewerking met 30 vervolgens met 20 ml aangezuurde ether.

4.1.3. Verzamel de etherische extracten droog met watervrij natriumsulfaat. Filtreer. Damp af tot een volume van ± 5 ml.

4.2. Identificatie

4.2.1. Breng op de startlijn van de chromatografieplaat met 20 µl van de verkregen oplossing, een 1,5 cm lange streep aan. Doe hetzelfde met 10 µl van de benzoëzuuroplossing, 5 µl van de dehydroazijnzuuroplossing en 3 µl van de andere standaarden.

1068

sous une épaisseur de 0,25 mm. Sécher les plaques à l'air, puis les activer par chauffage de 30 min. à 110° C

— Phase mobile : mélanger 100 vol. d'éther de pétrole, 40 vol. de chloroforme et 10 vol. d'acide formique.

— Cuve de chromatographie : saturée avec le solvant mobile.

Révélateurs

— Acide benzoïque :

a) 4,5 ml H₂O₂ (30 %)

4,5 ml d'eau

1 ml solution saturée de Mn SO₄

b) solution 0,3 % Fe SO₄

— Acide sorbique :

a) mélanger 5 vol. d'une solution aqueuse de K₂Cr₂O₇ 0,5 % + 5 vol. H₂SO₄ 0,3 n

b) solution saturée d'acide thiobarbiturique dans l'eau

— Acide salicylique : solution de FeCl₃ 0,1 % dans l'eau

— Acide déhydroacétique : solution de FeCl₃ 0,1 % dans l'eau

— Acide bromacétique

a) mélanger 3 vol. de solution de rouge de phénol (24 mg rouge de phénol dans 2,4 ml NaOH 0,1 n, compléter à 100 ml avec acétone) et 1 vol. de solution acétate sodique (6 g d'acétate de sodium + 3 vol. d'acide acétique, compléter à 100 ml avec de l'eau)

b) solution de chloramine T : dissoudre 25 mg de chloramine T dans 15 ml d'un mélange d'acétone-eau 1 : 1

— Acide parahydroxybenzoïque et ses esters : réactif de Millon. Dissoudre 10 g mercure dans 10 g acide nitrique fumant. Ajouter 10 à 20 vol. d'eau. Eventuellement, filtrer le dépôt.

4.1. Isolement

4.1.1. Agiter 10 g d'échantillon avec 50 ml d'éther acidifié pendant 3 minutes.

4.1.2. Laisser déposer et décanter prudemment la couche éthérée sur filtre. Procéder de la même façon en prenant 30 puis 20 ml d'éther acidifié.

4.1.3. Réunir les extraits éthérés et sécher avec du sulfate de sodium anhydre. Filtrer. Evaporer jusqu'à 5 ml environ.

4.2. Identification

4.2.1. Sur la ligne de départ de la plaque chromatographique, déposer en traits de 1,5 cm de long 20 µl de la solution obtenue. Déposer de façon identique sur un même trait 10 µl de la solution d'acide benzoïque, 5 µl de la solution d'acide déhydroacétique et 3 µl des autres témoins.

4.2.2. Ontwikkel de plaat met de loopvloeistof totdat de afstand tussen startlijn en het front 15 cm bedraagt. Neem de plaat uit, droog aan de lucht. Ontwikkel een tweede maal op dezelfde wijze.

4.2.3. Bekijk de plaat onder U.V. (366 nm). Markeer de vlekken.

4.2.4. Zichtbaar maken van de chromatogrammen

Benzoëzuur : bespuit met de oplossing a ; droog en bespuit met de oplossing b. Benzoëzuur geeft een bruine vlek op witte achtergrond.

Sorbinezuur : bespuit met het $K_2Cr_2O_7 + H_2SO_4$ mengsel ; droog de plaat in de droogstoof, verstuif de thiobarbituurzuur-oplossing, droog opnieuw. Sorbinezuur geeft een rose vlek.

Salicylzuur : bespuit met ijzer (III) chloride-oplossing. Salicylzuur geeft een violette vlek.

Dehydroazijnzuur : bespuit met ijzer (III) chloride-oplossing. Dehydroazijnzuur geeft een gele kleur op witte achtergrond.

Monobroomazijnzuur : stel de plaat 10 min. bloot aan ammoniakdampen, verwarm 10 min. op 100° C om de overmaat amoniak te verdrijven. Bespuit met fenolrood natriumacetaatmengsel, vervolgens met de chloramine T oplossing. Monobroomazijnzuur geeft een blauwe vlek op gele achtergrond.

p. *Hydroxybenzoëzuur en zijn esters* : bespuit met Millon's reagens en verwarm in de droogstoof. p. Hydroxybenzoëzuur en zijn esters geven een rode vlek.

4.2.5. Algemene opmerkingen

1) Het is aan te raden de detectiemiddelen te verstuiven in kleine hoeveelheden. Verwarm indien de reactie geen duidelijk resultaat geeft, in een stoof van 100° C. Bespuit en verwarm zonodig een tweede en zelfs een derde maal.

2) Spuit het detectiemiddel slechts op de zone van het chromatogram waar zich het gezochte conserveermiddel kan bevinden ; dek de rest van de plaat af.

3) Bekijk de platen bij U.V. licht golflengte 366 nm.

5. Aantonen van kunstmatige zoetstoffen

Lijst der reagentia en hulpmiddelen

- natriumsulfaat-oplossing : verzadigd
- watervrij natriumsulfaat
- ethylacetaat
- ethanol p.a. 96 %
- ethanol-water 1 : 1

1069

4.2.2. Développer la plaque avec la phase mobile jusqu'à ce que le front de solvant atteigne 15 cm au-dessus de la ligne de départ. Retirer la plaque, laisser sécher à l'air. Développer une deuxième fois de la même manière.

4.2.3. Examiner la plaque sous lumière U.V. (366 nm). Localiser les spots.

4.2.4. Révélation des chromatogrammes

Acide benzoïque : vaporiser avec la solution *a* ; sécher et vaporiser avec la solution *b*. L'acide benzoïque donne une tache brune sur fond blanc.

Acide sorbique : vaporiser avec le mélange $K_2Cr_2O_7 + H_2SO_4$, sécher la plaque à l'étuve, vaporiser la solution d'acide thiobarbiturique, chauffer à nouveau. L'acide sorbique donne une tache rose.

Acide salicylique : vaporiser avec la solution de chlorure ferrique. L'acide salicylique donne une coloration violette.

Acide déhydroacétique : vaporiser avec la solution de chlorure ferrique. L'acide déhydroacétique donne une coloration jaune sur fond blanc.

Acide monobromacétique : exposer la plaque 10 min. à des vapeurs d'ammoniaque ; chauffer 10 min. à 100° C pour éliminer l'excès d'ammoniaque. Vaporiser le mélange rouge de phénol, acétate sodique, puis directement la solution de chloramine T. L'acide monobromacétique donne une tache bleue sur fond jaune.

Acide p. hydroxybenzoïque et ses esters : vaporiser le réactif de Millon et chauffer à l'étuve. L'acide p. hydroxybenzoïque et ses esters donnent une tache rouge.

4.2.5. Remarques générales

1) Il est préférable de vaporiser les réactifs en très faible quantité. Si la réaction n'est pas suffisamment nette, chauffer à l'étuve à 100° C. Si nécessaire recommencer la vaporisation, suivie de chauffage une deuxième et même une troisième fois.

2) Vaporiser le réactif spécifique uniquement sur la zone du chromatogramme où peut se trouver l'antiseptique recherché ; couvrir le reste de la plaque.

3) Examiner les plaques sous U.V. longueur d'onde 366 nm.

5. Recherche des édulcorants synthétiques

Liste des réactifs et produits accessoires

- solution saturée de sulfate de sodium
- sulfate de sodium anhydre
- acétate d'éthyle
- éthanol p.a. 96 %
- éthanol-eau 1 : 1

1070

— zwavelzuur 4 n

— Oplossingen van de kunstmatige zoetstoffen :

cyclamaatoplossing : 100 mg natriumcyclamaat oplossen in 100 ml van het ethanol-water mengsel

dulcine-oplossing : 100 mg dulcine oplossen in 100 ml ethanol

saccharine-oplossing : 100 mg saccharine oplossen in 100 ml ethanol.

Platen voor dunnelaagchromatografie

Meng in een mixer 9 g 10 % geacetylerde cellulose (MN 300 Ac Macherey-Nagel & C^o) en 6 g polyamidepoeder voor dunnelaagchromatografie (Woelm of gelijkwaardig) met 60 ml ethanol tot een homogene suspensie.

Breng deze suspensie met een laagdikte van 0,25 mm aan op de platen voor dunnelaagchromatografie. Laat drogen aan de lucht, vervolgens 10 min. op 70° C in de droogstoof. Koel de platen af in een exsiccator.

— Loopvloeistof : meng 45 vol. Shell sol. A, (1) 6 vol. n-propanol, 7 vol. azijnzuur en 2 vol. mierzuur. Bereid op het ogenblik van het gebruik. Voorzie de chromatografiekamer van filterpapier ter verzadiging van de kamer.

— Detectiemiddel : los 200 mg dichloorfluoresceïne op in 100 ml ethanol.

5.1. Isolatie

5.1.1. Schud gedurende 3 minuten 3 g monster met 50 ml aangezuurde ethylacetaat.

5.1.2. Laat bezinken en breng de bovenstaande vloeistof voorzichtig op een filter. Herhaal deze bewerking met 30 vervolgens met 20 ml aangezuurde ethylacetaat.

5.1.3. Verzamel de ethylacetaatextracten, droog over watervrij natriumsulfaat. Filtreer en damp in tot een volume van 4 ml.

5.2. Identificatie

5.2.1. Breng 3 μ l van de verkregen oplossing op de startlijn van een plaat voor dunnelaagchromatografie.

5.2.2. Breng vervolgens 2 μ l van de cyclamaat-, de dulcine- en de saccharine-oplossing op de startlijn.

5.2.3. Elueer de plaat met vers bereide loopvloeistof tot de afstand tussen startlijn en het front 10 cm bedraagt.

(1) Shell sol. A is een mengsel van koolwaterstoffen dat door Shell in de handel wordt gebracht.

1070

- acide sulfurique 4 n
- Solutions d'édulcorants synthétiques :

solution de cyclamate : dissoudre 100 mg de cyclamate de soude dans 100 ml du mélange éthanol-eau

solution de dulcine : dissoudre 100 mg de dulcine dans 100 ml d'éthanol

solution de saccharine : dissoudre 100 mg de saccharine dans 100 ml d'éthanol

Plaques pour chromatographie sur couche mince

Dans un mixer mélanger 9 g de cellulose acétylée à 10 % (MN 300 Ac Macherey-Nagel & Co) 6 g de poudre de polyamide pour chromatographie sur couche mince (Woelm ou équivalent) avec 60 ml d'éthanol jusqu'à suspension homogène.

Étendre une couche de 0,25 mm sur des plaques pour chromatographie. Laisser sécher à l'air puis 10 min. dans une étuve à 70° C. Refroidir les plaques dans un exsiccateur.

— Phase mobile : mélanger 45 vol. de Shell sol. A, (1) 6 vol. de n-propanol, 7 vol. d'acide acétique et 2 vol. d'acide formique. A préparer extemporanément. Garnir l'intérieur de la cuvette avec du papier filtre pour favoriser la saturation de l'atmosphère.

— Révélateur : dissoudre 200 mg de dichlorofluorescéine dans 100 ml d'éthanol.

5.1. Isolement

5.1.1. Agiter pendant 3 minutes 3 g de l'échantillon avec 50 ml d'acétate d'éthyle acidifié.

5.1.2. Laisser déposer et décanter prudemment la solution surnageante sur filtre. Procéder de la même façon avec 30 puis 20 ml d'acétate d'éthyle acidifié.

5.1.3. Réunir les extraits d'acétate d'éthyle et les sécher avec du sulfate de sodium anhydre. Filtrer et évaporer jusqu'à 4 ml.

5.2. Identification

5.2.1. Déposer 3 μ l de la solution obtenue sur la ligne de départ d'une plaque pour chromatographie sur couche mince.

5.2.2. Déposer ensuite 2 μ l des solutions de cyclamate, de dulcine et de saccharine sur la ligne de départ.

5.2.3. Eluer la plaque à l'aide de la phase mobile préparée extemporanément jusqu'à ce que la distance entre la ligne de départ et le front atteigne 10 cm.

(1) Le Shell sol. A est un mélange d'hydrocarbures commercialisé par Shell.

1071

5.2.4. Bespuit de plaat na verdampen van de loopvloeistof met het detectiemiddel.

5.2.5. Beschouw het zo verkregen chromatogram in ultraviolet licht (254 nm).

6. Kleurstoffen

Het onderzoek wordt verricht conform de Aanbeveling M (65) 4 van het Comité van Ministers van de Benelux Economische Unie inzake de toepassing van een Benelux-Referentiemethode voor het opsporen en het identificeren van in levensmiddelen aanwezige, in water oplosbare, synthetische kleurstoffen.

7. Zuurtegraad

Reagentia :

- natriumhydroxydeoplossing 0,1 n
- ethanol 67 vol. %
- fenolftaleïne, 1 % ethanolische oplossing.

7.1. Meng 10 g van het monster gedurende 5 minuten met 50 ml alcohol, die van tevoren met 0,1 n natriumhydroxydeoplossing op fenolftaleïne geneutraliseerd is. Filtreer vervolgens door een vouwfilter met een diameter van 15 cm, terwijl de trechter afgedekt wordt. Pipetteer 25 ml van het filtraat zodra genoeg is doorgelopen in een konische kolf van 100 ml. Na toevoeging van 3 druppels fenolftaleïne titreer met de natriumhydroxydeoplossing tot aan een rose verkleuring.

7.2. Het aantal verbruikte ml natriumhydroxydeoplossing 0,1 n vermenigvuldigd met 2 geeft de zuurgraad.

8. Aard van het zetmeel

8.1. Breng een paar korreltjes of een weinig van de te onderzoeken waar op een voorwerpglaasje. Voeg een druppeltje water toe en meng met een roerstaafje. Bedek het mengsel met een dekglaasje en bekijk het preparaat microscopisch.

9. Bepaling van sulfiet in maïszetmeel

Reagentia :

- Methanol
- Stikstof in cylinder
- Waterstofperoxyde 3 % g/g (vers bereid)
- Zoutzuur 4n
- Broomfenolblauw 0,1 % (g/v) in 20 % (v/v) ethanol
- Natriumhydroxyde 0,1000 n.
- Bariumchloride 0,01 M.

1071

5.2.4. Vaporiser le révélateur sur la plaque après évaporation de la phase mobile.

5.2.5. Examiner le chromatogramme ainsi obtenu à la lumière ultraviolette (254 nm).

6. Colorants

L'examen est effectué conformément à la Recommandation M (65) 4 du Comité de Ministres de l'Union économique Benelux relative à l'application d'une méthode de référence Benelux pour la recherche et l'identification des colorants synthétiques, solubles dans l'eau, présents dans les denrées alimentaires.

7. Degré d'acidité

Réactifs :

- solution de soude caustique 0,1 n
- éthanol 67 % vol.
- phénolphtaléine : solution éthanolique à 1 %.

7.1. Mélanger pendant 5 minutes 10 g de l'échantillon avec 50 ml d'alcool neutralisé au préalable par la solution NaOH 0,1 n en présence de phénolphtaléine. Filtrer ensuite sur filtre plissé de 15 cm de diamètre, l'entonnoir étant couvert. Pipeter dès que possible 25 ml du filtrat, les transférer dans un vase conique de 100 ml. Après addition de 3 gouttes de phénolphtaléine, titrer par la solution de NaOH jusqu'à coloration rose.

7.2. Le nombre de ml de la solution de NaOH 0,1 n utilisé, multiplié par 2, donne le degré d'acidité.

8. Nature de l'amidon

8.1. Déposer quelques granulés ou une petite quantité de la denrée à examiner, sur une lame porte-objet. Ajouter une goutte d'eau, mélanger avec une baguette. Recouvrir le mélange d'un couvre-objet et examiner la préparation au microscope.

9. Dosage du sulfite dans l'amidon de maïs

Réactifs :

- Méthanol
- Azote en bonbonne
- Eau oxygénée 3 % p/p (fraîchement préparée)
- Acide chlorhydrique 4n
- Bleu de bromo-phénol 0,1 % (p/v) dans 20 % (v/v) d'éthanol
- Solution d'hydroxyde de sodium 0,1000 n
- Solution de chlorure de baryum 0,01 M

1072

— Bufferoplossing : los op 10 g magnesiumdikaliumzout van EDTA in 200 ml water en meng met een oplossing van 70 g ammoniumchloride in 1800 ml ammoniak 25 % (g/g).

(EDTA = ethyleen diamine N.N' tetra azijnzuur).

— EDTA-oplossing 0,0200 M ; los op 7,444 g dinatriumzout van EDTA in water en vul aan tot 1000 ml. Stel de titer t_k .

— Eriochroomzwart-T : los op 0,5 g Eriochroomzwart-T en 4,5 g hydroxylamine hydrochloride in 96 vol % ethanol en verdun tot 100 ml. (Deze oplossing is 3 weken houdbaar).

Benodigde apparatuur

Zwavel dioxide-destillatietoestel (zie tekening blz. 1074) bestaande uit vijf delen.

A is een kolf van 1 liter met twee slijpstukken B 34.

D is een recipiënt met 25 ml inhoud ; gas kan ontwijken door een geperforeerd bolletje. Het verbindingsstuk E is voorzien van slijpstukken B 12,5 en B 19.

Alle slijpstukken worden afgedicht met siliconenvet en met veren vergrendeld.

Elektrische kookplaat met magnetische roerder.

9.1. Breng in de kookkolf een magnetisch roerstaafje, enige kooksteentjes en 50 ml methanol.

Leid door het gehele toestel gedurende ten minste 15 minuten een gelijkmatige stikstofstroom van ca. 100 ml/min.

Breng met behulp van een maatcilinder 10 ml waterstofperoxyde in de recipiënt (D).

9.2. Weeg 100 g van de waar (tot op 0,1 g nauwkeurig) af in een bekeerglas van 600 ml.

Voeg 100 ml methanol toe en roer tot een gladde suspensie.

Laat, zonder de gasstroom te onderbreken, deze suspensie door de doseertrechter in de kolf vloeien.

Spoel bekeerglas en trechter enige malen na met totaal 75 ml methanol en 50 ml gedestilleerd water. Houd de suspensie in beweging d.m.v. de magnetische roerder.

Voeg dan, eveneens door de doseertrechter, 40 ml zoutzuur toe en stel de koeling in werking.

Verhit de kolf zodanig, dat de inhoud krachtig en gelijkmatig kookt ; zet het koken gedurende één uur voort, onder voortdurend gas inleiden.

9.3. Spoel de inhoud van de recipiënt met weinig gedestilleerd water over in een konische kolf van 300 ml en kook 15 minuten.

Titreer, na afkoelen en toevoegen van 3 druppels broomfenolblauw, met natriumhydroxyde (Verbruik a ml). Verricht een blanco titratie van 10 ml waterstofperoxyde na 15 min. koken en afkoelen. (Verbruik b ml).

1072

— Solution tampon : dissoudre 10 g du complexe magnésium EDTA dipotassique dans 200 ml d'eau et mélanger avec une solution de 70 g de chlorure d'ammonium dans 1800 ml d'ammoniaque 25 % (p/p) (EDTA = éthylène diamine N.N'-tétra acétique)

— Solution EDTA 0,0200 M ; dissoudre 7,444 g de sel disodique de EDTA dans de l'eau et compléter à 1000 ml. Soit le titre t_k .

— Solution de Noir d'Eriochrome-T : dissoudre 0,5 g de noir d'Eriochrome-T et 4,5 g de chlorhydrate d'hydroxylamine dans 100 ml d'éthanol à 96 % (v/v)

(Cette solution se conserve pendant trois semaines).

Appareillage

Appareil de distillation du SO_2 (voir figure page 1074) constitué de 5 parties.

A est un ballon de 1 litre comportant deux cols rodés B 34.

D est un récipient de 25 ml ; le gaz peut s'échapper par un bulbe perforé. La pièce de connexion E est pourvue de parties rodées B 12,5 et B 19. Toutes les pièces rodées sont rendues étanches à l'aide, de graisse de silicone et verrouillées par des ressorts.

Plaque chauffante électrique avec agitateur magnétique.

9.1. Dans le ballon, déposer un petit agitateur magnétique, quelques grains de pierre ponce et 50 ml de méthanol. Pendant 15 min., au moins, faire passer dans tout l'appareil un courant régulier d'azote d'environ 100 ml/min. A l'aide d'un cylindre gradué, introduire 10 ml d'eau oxygénée dans le récipient-collecteur (D).

9.2. Dans un bécher de 600 ml, peser, à 0,1 g près, 100 g de la denrée. Ajouter 100 ml de méthanol et remuer jusqu'à obtenir une suspension homogène. Sans interrompre le courant de gaz, introduire cette suspension dans le ballon par l'entonnoir doseur.

Laver à plusieurs reprises le bécher et l'entonnoir à l'aide de 75 ml de méthanol et de 50 ml d'eau distillée au total. Tenir la suspension en mouvement au moyen de l'agitateur magnétique.

Ajouter ensuite par l'entonnoir doseur 40 ml d'acide chlorhydrique et mettre en marche le réfrigérant.

Chauffer le ballon de telle sorte que son contenu soit fortement et régulièrement en ébullition. Poursuivre l'ébullition pendant une heure tout en introduisant constamment du gaz.

9.3. Transférer le contenu du récipient-collecteur quantitativement avec un peu d'eau distillée dans un vase conique de 300 ml. Faire bouillir le contenu du vase conique pendant 15 min.

Après refroidissement, ajouter trois gouttes de bleu de bromo-phénol et titrer à l'aide de la solution d'hydroxyde de sodium (nombre de ml utilisés = a).

1073

9.4. Kook de na de alkalimetrische titratie verkregen oplossing gedurende 5 minuten en voeg aan de kokende vloeistof met een pipet 10,00 ml bariumchloride toe. Kook nog één minuut door en plaats de kolf gedurende één uur op een kokend waterbad.

Koel af en voeg zoveel water toe, tot het volume ca. 100 ml bedraagt.

9.5. Voeg nu achtereenvolgens toe 4 ml bufferoplossing, 0,5 ml zoutzuur en 7 druppels Eriochroomzwart-T.

Titreer direct met de EDTA-oplossing uit een microburet, tot de vloeistof zuiver blauw is. (Verbruik c ml).

Verricht een blanco titratie van 10 ml bariumchloride. (Verbruik d ml).

9.6. Bereken het sulfietgehalte G van de waar uit de alkalimetrische titratie met behulp van de formule :

$$G = \frac{(a-b) \cdot t_1 \cdot 32.1000}{g} \text{ mg SO}_2/\text{kg}$$

of uit de complexometrische titratie met behulp van de formule :

$$G = \frac{(d-c) \cdot t_k \cdot 64.1000}{g} \text{ mg SO}_2/\text{kg}$$

t_1 = titer loog (NaOH).

t_k = titer EDTA-oplossing

10. Microbiologisch onderzoek

10.1. Schimmels

Deze methode zal worden beschreven in een aanvulling bij deze Aanbeveling.

1073

Après 15 min. d'ébullition et refroidissement, effectuer une titration à blanc de 10 ml d'eau oxygénée (nombre de ml utilisés = b).

9.4. Faire bouillir pendant 5 minutes la solution obtenue après la titration alcalimétrique ; à l'aide d'une pipette, ajouter 10,00 ml de la solution de chlorure de baryum au liquide bouillant. Poursuivre l'ébullition pendant une minute encore et placer le ballon pendant 1 heure au bain-marie bouillant.

Refroidir et ajouter de l'eau jusqu'à ce que le volume atteigne environ 100 ml.

9.5. Ajouter successivement 4 ml de solution tampon, 0,5 ml d'acide chlorhydrique et 7 gouttes de noir Eriochrome-T.

Titrer immédiatement avec la solution EDTA à l'aide d'une microburette jusqu'à ce que le liquide soit d'un bleu pur. (Nombre de ml utilisés = c).

Exécuter une titration à blanc de 10 ml de chlorure de baryum. (Nombre de ml utilisés = d).

9.6. Calculer la teneur en sulfite G de la denrée, à l'aide de la titration alcalimétrique par la formule :

$$G = \frac{(a-b) \cdot t \cdot 32.1000}{g} \text{ mg SO}_2/\text{kg}$$

ou à l'aide de la titration complexo-métrique, par la formule :

$$G = \frac{(d-c) \cdot t_k \cdot 64.1000}{g} \text{ mg SO}_2/\text{kg}$$

t_1 = titre de la solution d'hydroxyde de sodium

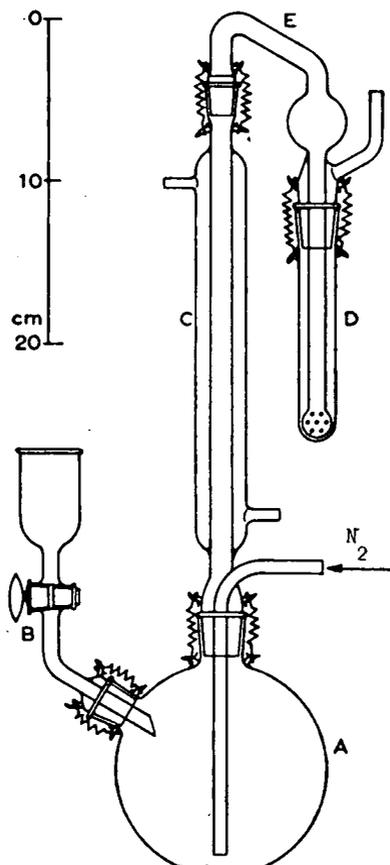
t_k = titre de la solution EDTA

10. Examen microbiologique

10.1. Moisissures

Cette méthode fera l'objet d'un complément à la présente Recommandation.

1074



WIJZIGINGSBLADEN
van reeds vroeger verschenen afleveringen
der Basisteksten

FEUILLETS MODIFIES
des suppléments aux Textes de base
parus antérieurement

DEEL ***

**BESCHIKKINGEN EN AANBEVELINGEN
VAN HET COMITE VAN MINISTERS
van 12 april 1967 t/m 31 december 1968**

M (67) 1 — M (68) 52

(blz. 635 - 1074)

TOME ***

**DECISIONS ET RECOMMANDATIONS
DU COMITE DE MINISTRES
prises du 12 avril 1967 au 31 décembre 1968**

M (67) 1 — M (68) 52

(pages 635 - 1074)

I

INHOUD *)

Lijst van beperkingen op het vrije handelsverkeer, bedoeld in artikel 10 van de Overgangsovereenkomst, M (67) 3	638
Farmaceutische specialiteiten van Nederlandse oorsprong, M (67) 4	656
Pesticiden en fytofarmaceutische produkten (tweede Aanbeveling), M (67) 5	698
Gezondheidscontrole op honden en katten, M (67) 6	663
Cacao en chocolade (analysemethoden), M (67) 7	669
Smetstoffen voorkomend bij dieren en levende vaccins voor veterinair gebruik, M (67) 8	688
Tuberculine voor veterinair gebruik, M (67) 9	694
Slijpmachines, M (67) 11	727
Bepaalde technische eisen voor motorrijtuigen, aanhangwagens en opleggers (tweede wijziging van Beschikkingen M (64) 9 en 17), M (67) 16	695
Afmetingen en gewichten van bedrijfsvoertuigen, welke in het intra-Beneluxverkeer zijn toegelaten (wijziging van Beschikking M (62) 7), M (67) 17	750
Minimumeisen voor de voornaamste veterinaire sera en vaccins op basis van smetstoffen van zoönosen, welke onder een controleregeling vallen, M (67) 18	752
Overeenkomst tot opheffing van de Monetaire Overeenkomst van 21 oktober 1943, M (67) 21 (zie Deel 1)	
Bepaalde technische eisen voor motorrijtuigen, aanhangwagens en opleggers (derde wijziging van Beschikkingen M (64) 9 en 17), M (67) 23	764
Gemeenschappelijke uitvoerings- en controlevoorschriften voor het ongeregelde internationale reizigersvervoer over de weg (vervanging van Beschikking M (60) 17), M (67) 24	770
Centrifuges, M (68) 11	778
Intra-Beneluxverkeer van meststoffen enz., M (68) 12	792
Maatregelen tegen de invoer van voor planten enz. schadelijke organismen, M (68) 13	823

*) Duidelijkheidshalve zijn in deze inhoudsopgave de door het Comité van Ministers vóór 1 mei 1969 ingetrokken Beschikkingen en Aanbevelingen niet meer vermeld.

I

TABLE DES MATIERES *)

Liste des entraves à la libre circulation des marchandises, visée à l'article 10 de la Convention transitoire, M (67) 3	638
Spécialités pharmaceutiques originaires des Pays-Bas, M (67) 4	656
Pesticides et produits phytopharmaceutiques (deuxième Recommandation), M (67) 5	698
Contrôle sanitaire des chiens et des chats, M (67) 6	663
Cacao et chocolat (méthodes d'analyse), M (67) 7	669
Agents pathogènes pour les animaux et les vaccins vivants à usage vétérinaire, M (67) 8	688
Tuberculine à usage vétérinaire, M (67) 9	694
Meulseuses, M (67) 11	727
Certaines conditions techniques relatives aux véhicules automoteurs, remorques et semi-remorques (deuxième modification des Décisions M (64) 9 et 17), M (67) 16	695
Poids et dimensions des véhicules utilitaires admis dans la circulation intra-Benelux (modifiant la Décision M (62) 7), M (67) 17	750
Exigences minimales pour les principaux serums et vaccins vétérinaires, qui pourraient constituer des risques de zoonoses et qui tombent sous une réglementation prévue pour le contrôle, M (67) 18	752
Convention abrogeant la Convention monétaire du 21 octobre 1943, M (67) 21 (voir Tome 1)	
Certaines conditions techniques relatives aux véhicules automoteurs, remorques et semi-remorques (troisième modification des Décisions M (64) 9 et 17), M (67) 23	764
Règles communes d'exécution et de contrôle pour les transports irréguliers internationaux de voyageurs par route (remplaçant la Décision M (60) 17), M (67) 24	770
Essoreuses à force centrifuge, M (68) 11	778
Commerce intra-Benelux d'engrais etc., M (68) 12	792
Mesures pour prévenir l'introduction d'organismes nuisibles aux végétaux, M (68) 13	823

*) Pour plus de clarté, cette Table des matières ne reprend plus les Décisions ni Recommandations abrogées par le Comité de Ministres avant le 1^{er} mai 1969.

II

Zout, bestemd voor menselijke consumptie, M (68) 14	845
Spijsaroma's en bouillons, M (68) 15	
Specerijen en specerijproducten, M (68) 16	850
Vleesextract en vleesbouillon, M (68) 17	
Soepen, M (68) 18	
Thee, thee-extract, maté en theesurrogaten, M (68) 19	859
Koffie, koffie-extracten en koffiesurrogaten, M (68) 20	865
Vervoer van vers vlees, M (68) 21	
Wijziging van Beschikkingen M (64) 9 en 17 (motorrijtuigen, aanhangwagens en opleggers), M (68) 22	
Deconstructiemateriaal, M (68) 24	873
Het bacteriologisch vleesonderzoek (Richtlijn), M (68) 25	878
Identificatie van slachtdieren, M (68) 26	
Het verwerken van paardevlees in vleeswaren, M (68) 28	880
De behandeling van vlees, besmet met <i>cysticercus bovis</i> , M (68) 29	882
Eisen te stellen aan slachtinrichtingen, vleeswarenfabrieken en uitsnijderijen, M (68) 30	884
Het Veterinaire Tuchtrecht, M (68) 31	887
Intra-Beneluxverkeer van levende paarden, jonge kalveren, schapen, geiten, levend pluimvee enz., M (68) 32	889
Intra-Beneluxverkeer van rundvlees in kleinere delen dan vierendelen, M (68) 34	903
Intra-Beneluxverkeer van vers paardevlees, M (68) 35	906
Intra-Beneluxverkeer van groene magen, pensen enz., M (68) 36	909
Intra-Beneluxverkeer van vlees, dat residuen van oestrogene stoffen of antibiotica bevat, M (68) 37	911
Intra-Beneluxverkeer van varkenspoten, M (68) 38	914
Intra-Beneluxverkeer van organen en delen van slachtdieren, bestemd voor ophoertherapeutische doeleinden, M (68) 39	916
Veterinaire problematiek bij het sluiten van handelsakkoorden (Richtlijn), M (68) 40	919

II

Sel destiné à la consommation humaine, M (68) 14	845
Arômes alimentaires et bouillons, M (68) 15	
Épices et produits à base d'épices, M (68) 16	850
Extrait de viande et bouillon de viande, M (68) 17	
Potages, M (68) 18	
Thé, extrait de thé, maté et succédanés de thé, M (68) 19	859
Café, extraits de café et succédanés de café, M (68) 20	865
Transport de viandes fraîches, M (68) 21	
Modification des Décisions M (64) 9 et 17 (véhicules auto- moteurs, remorques et semi-remorques), M (68) 22	
Matières à détruire d'origine animale, M (68) 24	873
L'examen bactériologique des viandes (Directive), M (68) 25	878
Identification des animaux de boucherie, M (68) 26	
L'incorporation des viandes chevalines dans les préparations de viandes, M (68) 28	880
Le traitement des viandes, atteintes de <i>cysticercus bovis</i> , M (68) 29	882
Exigences à imposer aux établissements d'abattage, fabri- ques de viandes et ateliers de découpe, M (68) 30	884
La discipline vétérinaire, M (68) 31	887
Trafic intra-Benelux des chevaux vivants, jeunes veaux, moutons, chèvres, volaille vivante etc., M (68) 32	889
Trafic intra-Benelux des viandes bovines en découpes plus petites que des quartiers, M (68) 34	903
Trafic intra-Benelux des viandes chevalines fraîches, M (68) 35	906
Trafic intra-Benelux d'estomacs, rumens etc., M (68) 36	909
Trafic intra-Benelux des viandes contenant des résidus de substances oestrogènes ou antibiotiques, M (68) 37	911
Trafic intra-Benelux de pieds de porcs, M (68) 38	914
Trafic intra-Benelux d'organes et morceaux d'animaux de boucherie destinés à des usages opothérapeutiques, M (68) 39	916
Problèmes sanitaires-vétérinaires se posant lors de la con- clusion d'accords commerciaux (Directive), M (68) 40	919

III

Het opmaken en het gebruik van de vrachtbrief-vervoerdocument voor het goederenvervoer tegen vergoeding over de weg tussen de Beneluxlanden, M (68) 41	943
Bouwliften voor personen- en goederenvervoer, M (68) 42	948
Bepaalde technische eisen voor motorrijtuigen, aanhangwagens en opleggers (vierde wijziging van Beschikkingen M (64) 9 en 17), M (68) 43	962
Coördinatie van volks-, woning- en bedrijfstellingen, M (68) 44	1028
Normalisatie, M (68) 45	997
Gasmeters, welke het gemeten gas in eenheden van volume aangeven, M (68) 46	1004
Niet-automatische weegwerktuigen, M (68) 47	1012
De meeteenheden, M (68) 48	1016
Honing (analysemethoden), M (68) 49	1031
Geëvaporeerde en gecondenseerde melk (analysemethoden), M (68) 50	1047
Melkpoeder (analysemethoden), M (68) 51	1056
Zetmeel en puddingpoeder (analysemethoden), M (68) 52	1063

III

L'établissement et l'emploi de la lettre de voiture-document de transport pour les transports routiers rémunérés de marchandises entre les pays du Benelux, M (68) 41	943
Les ascenseurs de chantier destinés au transport de personnes et de marchandises, M (68) 42	948
Certaines conditions techniques relatives aux véhicules automoteurs, remorques et semi-remorques (quatrième modification des Décisions M (64) 9 et 17), M (68) 43	962
La coordination des recensements de la population, des logements et des entreprises, M (68) 44	1028
Normalisation, M (68) 45	997
Compteurs de gaz indiquant le gaz mesuré en unités de volume, M (68) 46	1004
Les instruments de pesage à fonctionnement non automatique, M (68) 47	1012
Les unités de mesure, M (68) 48	1016
Miel (méthodes d'analyse), M (68) 49	1031
Lait concentré sucré ou non (méthodes d'analyse), M (68) 50	1047
Lait en poudre (méthodes d'analyse), M (68) 51	1056
Fécules et poudres pour pudding (méthodes d'analyse), M (68) 52	1063

BENELUX ECONOMISCH EN
STATISTISCH
KWARTAALBERICHT

Deze driemaandelijkse publikatie bevat een artikelengedeelte en een statistisch gedeelte.

In eerstgenoemd gedeelte zijn op de actualiteit gerichte artikelen over Benelux-onderwerpen alsmede artikelen betrekking hebbend op het economische leven in de drie landen, opgenomen.

Het statistische gedeelte geeft in een aantal grafieken en tabellen een afgerond statistisch beeld van Benelux.

De prijs van deze publikatie bedraagt in jaarabonnement F 200 of f 15 (per nummer F 70 of f 5).

Voor de verkoopadressen raadplege men de achterzijde van deze omslag.

NIET PERIODIEKE
PUBLIKATIES VAN HET
SECRETARIAAT-GENERAAL

Het Secretariaat-Generaal geeft ook niet periodieke publikaties uit o.m. op sociaal, financieel en statistisch gebied. De volledige lijst van de niet periodieke publikaties is verkrijgbaar op het Secretariaat-Generaal van de Benelux Economische Unie, Regent-schapsstraat 39, Brussel 1.

BULLE'TIN TRIMESTRIEL
ECONOMIQUE ET
STATISTIQUE BENELUX

Ce bulletin trimestriel comporte deux parties : l'une consacrée aux articles, l'autre à la statistique.

La première partie contient des articles qui traitent de sujets d'actualité concernant le Benelux ainsi que des articles sur la vie économique dans les trois pays.

L'autre partie établit, en graphiques et en tableaux, un aperçu statistique général du Benelux.

Le prix de l'abonnement annuel au bulletin s'élève à F 200 ou f 15 (le numéro : F 70 ou f 5).

Pour les adresses des bureaux de vente, prière de consulter le dos de la présente couverture.

PUBLICATIONS
NON PERIODIQUES
DU SECRETARIAT GENERAL

Le Secrétariat général édite également des publications non périodiques traitant notamment de questions sociales, financières et statistiques. La liste complète de ces publications peut être obtenue au Secrétariat général de l'Union économique Benelux, 39, rue de la Régence, Bruxelles 1.

PRIJZEN

Het **Benelux - Publikatieblad** kost F 0,75 per bedrukte bladzijde.

Facturering van abonnementen geschiedt per trimester.

Dit nummer kost fl 4,75 of F 68,—

De volledige verzameling der **Benelux-Basisteksten** (t/m de 28^o aanvulling, losbladig, in 5 plastic banden) kost fl 117,15 of F 1.673,—

PRIX

Le **Bulletin Benelux** coûte F 0,75 la page imprimée.

Les abonnements sont facturés par trimestre.

Le présent numéro coûte F 68,—

La collection complète des **Textes de base Benelux** (y compris le 28^{me} supplément, sur feuillets mobiles, 5 reliures en plastic) coûte F 1.673,—

KANTOREN voor VERKOOP en ABONNEMENTEN:

België

BELGISCH STAATSBAD

Leuvenseweg, 40, Brussel 1.

Uitsluitend door overschrijving van het verschuldigde bedrag op PCR 50.80 van het Bestuur van het Belgisch Staatsblad te Brussel.

Nederland, Luxemburg en derde landen

STAATSUITGEVERIJ

Chr. Plantijnstraat, 's-Gravenhage

BUREAUX de VENTE et d'ABONNEMENTS:

Belgique

MONITEUR BELGE

40, rue de Louvain, Bruxelles 1.

Exclusivement par virement au CCP 50.80 de la Direction du Moniteur belge à Bruxelles.

Pays-Bas, Luxembourg et pays tiers

STAATSUITGEVERIJ

Chr. Plantijnstraat, -La Haye